

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
ESCUELA DE POSGRADO
Programa de Doctorado en Ingeniería de Alimentos



UNS
ESCUELA DE
POSGRADO

Cuantificación de tiramina en chocolate para taza a tres concentraciones de cacao (Var. Forastero) procesado en el laboratorio de café y cacao de la UNJ

Tesis para optar el grado de
Doctor en Ingeniería de Alimentos

Autora:

M Sc. Cabrejos Barrios, Eliana Milagros
Código ORCID: 0000-0002-3137-0974
DNI. N° 41604663

Asesora:

Dra. León Roque, Noemí
Código ORCID: 0000-0001-5001-1558
DNI. N° 23006439

Línea de investigación
Valoración bioquímica, tecnológica y nutricional

Nuevo Chimbote - PERÚ
2025



UNS
ESCUELA DE
POSGRADO

CERTIFICACIÓN DEL ASESOR

Yo, **Dra. León Roque, Noemí**, mediante la presente certifico mi asesoramiento de la Tesis titulada: **Cuantificación de tiramina en chocolate para taza a tres concentraciones de cacao (Var. Forastero) procesado en el laboratorio de café y cacao de la UNJ**, elaborado por la **M.Sc. Cabrejos Barrios, Eliana Milagros**, para obtener el grado de Doctor en Ingeniería de Alimentos, en la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Santa.

Nuevo Chimbote, abril del 2025

Dra. LEÓN ROQUE, NOEMÍ

Asesora

DNI: 23006439

Código ORCID: 0000-0001-5001-1558



UNS
POSGRADO

AVAL DE CONFORMIDAD DEL JURADO

Tesis titulada: **Cuantificación de tiramina en chocolate para taza a tres concentraciones de cacao (Var. Forastero) procesado en el laboratorio de café y cacao de la UNJ**, elaborado por la **M.Sc. Cabrejos Barrios, Eliana Milagros**

Revisado y Aprobado por el Jurado Evaluador:

Dra. Aguirre Vargas, Elza Berta

Presidenta

DNI: 19096335

Código ORCID: 0000-0003-1659-9874

Dr. Castillo Martínez, Williams Esteward

Secretario

DNI: 40169364

Código ORCID 0000-0001-6917-1009

Dra. León Roque, Noemí

Vocal

DNI: 23006439

Código ORCID: 0000-0001-5001-1558



UNS
ESCUELA DE
POSGRADO

ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

A los doce días del mes de abril del año 2025, siendo las 11:00 horas, en el aula P-01 de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Santa, se reunieron los miembros del Jurado Evaluador, designados mediante Resolución Directoral N° 203-2025-EPG-UNS de fecha 25.02.2025, conformado por los docentes: Dra. Elza Berta Aguirre Vargas (Presidenta), Dr. William Esteward Castillo Martinez (Secretario) y Dra. Noemí León Roque (Vocal); con la finalidad de evaluar la tesis titulada: "CUANTIFICACIÓN DE TIRAMINA EN CHOCOLATE PARA TAZA A TRES CONCENTRACIONES DE CACAO (VAR. FORASTERO) PROCESADO EN EL LABORATORIO DE CAFÉ Y CACAO DE LA UNJ"; presentado por la tesista **Eliana Milagros Cabrejos Barrios**, egresada del programa de Doctorado en Ingeniería de Alimentos.

Sustentación autorizada mediante Resolución Directoral N° 440-2025-EPG-UNS de fecha 07 de abril de 2025.

La presidenta del jurado autorizó el inicio del acto académico; producido y concluido el acto de sustentación de tesis, los miembros del jurado procedieron a la evaluación respectiva, haciendo una serie de preguntas y recomendaciones al tesista, quien dio respuestas a las interrogantes y observaciones.

El jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como APROBADO, asignándole la calificación de DIECIOCHO.

Siendo las 12:10 horas del mismo día se da por finalizado el acto académico, firmando la presente acta en señal de conformidad.

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Presidenta

Dr. William Esteward Castillo Martinez
Secretario

Dra. Noemí León Roque
Vocal/Asesor

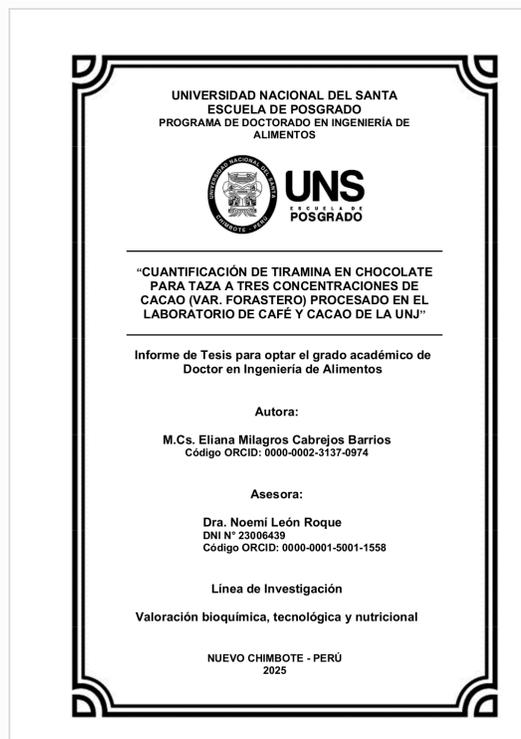


Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Hans Himbler MINCHÁN VELAYARCE
Título del ejercicio: DOCTORADO 2024 - UNS
Título de la entrega: INFORME DE TESIS DOCTORADO - Cabrejos Barrios Eliana Mila...
Nombre del archivo: INFORME_DE_TESIS_DOCTORADO_-_Cabrejos_Barrios_Eliana_...
Tamaño del archivo: 41.56M
Total páginas: 78
Total de palabras: 15,848
Total de caracteres: 87,942
Fecha de entrega: 27-may.-2025 03:02p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega: 2482046126



INFORME DE TESIS DOCTORADO - Cabrejos Barrios Eliana Milagros.docx

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%

INDICE DE SIMILITUD

14%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	5%
2	cienciasmarinas.com.mx Fuente de Internet	1%
3	revistas.unellez.edu.ve Fuente de Internet	1%
4	repositorio.unj.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	www.aytbuap.mx Fuente de Internet	1%
6	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	uvadoc.uva.es Fuente de Internet	<1%
8	bdigital.unal.edu.co Fuente de Internet	<1%
9	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	<1%
10	rodin.uca.es Fuente de Internet	<1%
11	Submitted to Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba Trabajo del estudiante	<1%

DEDICATORIA

A Dios por brindar sentido común en mi andar, a mi padre en el cielo y a mi madre en la tierra por los cimientos que generan en mi la voluntad de seguir adelante, a mis hermanos por su compañía, apoyo, paciencia y motivación a lo largo de este camino académico y a mi niño que a su corta edad me demuestra apoyo, consideración y amor incondicional que brinda la fortaleza para seguir avanzando.

AGRADECIMIENTO

Mi profunda gratitud para la Dra. Noemí León Roque por su acompañamiento en el transcurso de la investigación, a la Universidad Nacional del Santa que a través de la Escuela de Posgrado me albergó en sus aulas propiciando la actitud de investigador, a la Universidad Nacional de Jaén que a través de la Corporación Universitaria colaboró con el proceso productivo.

ÍNDICE

CERTIFICACION DEL ASESOR.....	ii
AVAL DEL JURADO EVALUADOR.....	iii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. Descripción del problema de investigación	11
1.2. Formulación del problema de investigación	12
1.3. Objetivo de investigación	12
1.4. Formulación de la hipótesis de investigación.....	12
1.5. Justificación e importancia de investigación	12
II. MARCO TEÓRICO.....	14
2.1. Antecedentes.....	14
2.2. Marco conceptual	16
III. METODOLOGÍA.....	26
3.1. Método de investigación.....	26
3.2. Diseño de investigación.....	26
3.3. Población y muestra.....	26
3.4. Operacionalización de las variables de estudio.....	26
3.5. Técnicas e instrumento de recolección de datos.....	28
3.5.1. Obtención de chocolate para taza.....	28
3.5.2. Perfil sensorial.....	31
3.5.3. Actividad antioxidante.....	32
3.5.4. Identificación y cuantificación de tiramina.....	34
3.6. Técnicas de análisis de resultados	36
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
4.1. Resultados.....	37

4.1.1. Caracterización del perfil sensorial.....	37
4.1.2. Capacidad antioxidante.....	39
4.1.3. Contenido de fenoles totales	39
4.1.4. Identificación y cuantificación de tiramina	40
4.1.5. Correlación entre perfil sensorial, actividad antioxidante, fenoles totales y cuantificación tiramina de las muestras de chocolate.....	42
4.2. Discusión	43
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	45
5.1. Conclusiones	45
5.2. Recomendaciones	46
VI. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	47
VII. ANEXOS.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Taxonomía del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	17
Tabla 2 Delimitación de la subespecie de <i>Theobroma cacao</i> L.	17
Tabla 3 Composición química del grano de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	18
Tabla 4 Estudios que indican el método-equipo empleado para el análisis de compuestos bioactivos presentes en alimentos	22
Tabla 5 Operacionalización de las variables.....	27
Tabla 6 Síntesis de los métodos, técnicas e instrumentos empleados para la recolección de datos.....	28
Tabla 7 Formulación empleada para elaborar chocolate para taza al 100, 70 y 40 % de concentración de cacao (var. Forastero).....	31
Tabla 8 Valores de actividad antioxidante de las muestras de chocolate, medida por los métodos ABTS, DPPH y FRAP.....	39
Tabla 9 Cuantificación de fenoles totales de las muestras de chocolate.....	39
Tabla 10 Cuantificación de tiramina en las muestras de chocolate.....	40
Tabla 11 Resultados del análisis sensorial de las muestras, por cada atributo evaluado	62
Tabla 12 Capacidad antioxidante en chocolate para taza a 100, 70 y 40 % de concentración de cacao	63
Tabla 13 Fenoles totales en chocolate para taza a 100, 70 y 40 % de concentración de cacao.....	64
Tabla 14 Resultados de la calibración de tiramina.....	65
Tabla 15 Resultados de cuantificación de tiramina, por cromatografía líquida de alta precisión	66
Tabla 16 Resumen de la validación de supuestos de normalidad y homocedasticidad, para elegir la metodología estadística a usar.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Variedad de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	17
Figura 2 Proceso de beneficio del cacao.....	18
Figura 3 Proceso de obtención de chocolate para taza.....	20
Figura 4 Diagrama de flujo de proceso de elaboración de chocolate para taza a 100, 70 y 40 % de cacao	30
Figura 5 Preparación de la muestra para derivatización.....	34
Figura 6 Proceso de derivatización	35
Figura 7 Especificaciones para identificación y cuantificación de tiramina en HPLC	35
Figura 8 Cromatógrafo Shimadzu, Modelo DGU 20A3R	36
Figura 9 <i>Perfil sensorial de los atributos evaluados en las muestras de chocolate para taza.....</i>	37
Figura 10 <i>Biplot de correspondencias entre los atributos sensoriales y las muestras de chocolate para taza</i>	38
Figura 11 Perfil cromatográfico de presencia de tiramina en muestra de chocolate para taza al 40 % de concentración de cacao.....	40
Figura 12 Perfil cromatográfico de presencia de tiramina en muestra de chocolate para taza al 70 % de concentración de cacao.....	41
Figura 13 <i>Perfil cromatográfico de presencia de tiramina en muestra de chocolate para taza al 100 % de concentración de cacao.....</i>	41
Figura 14 <i>Matriz de correlación entre los atributos sensoriales, actividad antioxidante (tres métodos), concentración de fenoles totales y concentración de tiraminas.</i>	42
Figura 15 Constancia de variedad de cacao forastero	59
Figura 16 Ajuste lineal de los resultados de calibración de tiramina.....	65
Figura 17 Proceso de análisis para capacidad antioxidante	67
Figura 18 Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de actividad antioxidante obtenidos por el método FRAP	69
Figura 19 Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de actividad antioxidante obtenidos por el método ABTS	70

Figura 20 Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de actividad antioxidante obtenidos por el método DPPH.....	71
Figura 21 Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de cuantificación de Fenoles Totales	72
Figura 22 <i>Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de concentración de Tiraminas.....</i>	73
Figura 23 <i>Análisis de Varianza y Test de Tukey para los datos de actividad antioxidante obtenidas por el método FRAP.....</i>	74
Figura 24 <i>Análisis de Varianza y Test de Tukey para los datos de actividad antioxidante obtenidas por el método ABTS</i>	74
Figura 25 <i>Test de Kruskal-Wallis y comparaciones de Nemenyi para los datos de actividad antioxidante obtenidas por el método DPPH.....</i>	75
Figura 26 <i>Test de Kruskal-Wallis y comparaciones de Nemenyi para las cantidades de Fenoles totales de las muestras de chocolate</i>	76
Figura 27 <i>Test de Kruskal-Wallis y comparaciones de Nemenyi las concentraciones de Tiramina de las muestras de chocolate</i>	77

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Materia prima utilizada en la investigación	59
Anexo 2 Constancia de capacitación para personal catador	60
Anexo 3 Ficha de evaluación sensorial	61
Anexo 4 Análisis Sensorial.....	62
Anexo 5 Capacidad antioxidante.....	63
Anexo 6 Calibración de la curva de Tiramina	65
Anexo 7 Resultados de cuantificación de Tiramina	66
Anexo 8 Galería fotográfica del proceso de capacidad antioxidante	67
Anexo 9	68
Anexo 10 Prueba de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos actividad antioxidante	69
Anexo 10 Prueba de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de cuantificación de Fenoles Totales	72
Anexo 11 Prueba de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de cuantificación de Tiraminas.....	73
Anexo 12 Análisis de diferencias significativas entre los datos actividad antioxidante de las muestras de chocolate	74
Anexo 13 Análisis de diferencias significativas entre las cantidades de Fenoles totales de las muestras de chocolate	76
Anexo 14 Análisis de diferencias significativas entre las concentraciones de Tiramina de las muestras de chocolate	77

RESUMEN

Los compuestos aminos se encuentran en los alimentos de manera natural o como resultado de un proceso de transformación, su importancia recae en el beneficio que confiere a la salud de quien lo consume, no obstante, en concentraciones no adecuadas ejerce efectos negativos para la salud. El chocolate es una fuente de aminas biógenas producto del proceso fermentativo como la tiramina. El objetivo del estudio fue cuantificar la tiramina en chocolate para taza a distintas concentraciones de cacao (var. forastero) procesado en el recinto de análisis de café y cacao de la Universidad Nacional de Jaén. Las concentraciones empleadas fueron de 100 %, 70 % y 40 % de cacao, la calidad del chocolate se caracterizó mediante juicio de expertos quienes determinaron el perfil sensorial del producto en estudio, la capacidad antioxidante se evaluó considerando los ensayos ABTS, DPPH, FRAP y los compuestos fenólicos totales por la metodología Folin-Ciocalteu, la identificación y cuantificación de tiramina se caracterizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). De las concentraciones estudiadas se obtuvo mejor valoración por atributo al chocolate con concentración de cacao de (70 % y 100 %). Se identificó la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales con mejor presencia el chocolate al 100 % de concentración de cacao en los ensayos estudiados ABTS, DPPH, FRAP y fenoles totales; con la cromatografía se confirmó que el chocolate con concentración de cacao al 100 % presentó la mayor concentración de tiramina (8.38 mg/L), mientras que la de 40 % mostró la menor cantidad (0.37 mg/L). Finalmente, se concluye que por método cromatográfico se pudo cuantificar la presencia de tiramina, obteniendo un mayor porcentaje el chocolate con mayor concentración de cacao en su elaboración.

Palabras clave: Cacao, aminas biógenas, tiramina, cromatografía líquida, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Amino compounds are found in foods naturally or as a result of a transformation process, their importance lies in the benefit they confer to the health of those who consume them, however, in inadequate concentrations they have negative effects on health. Chocolate is a source of biogenic amines produced by the fermentation process, such as tyramine. The objective of the study was to quantify tyramine in cup chocolate at three concentrations of cocoa (var. forastero) processed at the coffee and cocoa analysis facility of the National University of Jaén. The concentrations used were 100%, 70% and 40% cocoa, the quality of the chocolate was characterized by expert judgment who determined the sensory profile of the product under study, the antioxidant capacity was evaluated considering the ABTS, DPPH, FRAP assays and total phenolic compounds by Folin-Ciocalteu methodology, the identification and quantification of tyramine was characterized by high performance liquid chromatography (HPLC). Of the concentrations studied, the best attribute evaluation was obtained for chocolate with a cocoa concentration of (70 % and 100 %). The antioxidant capacity and total phenolic compounds were identified with better presence in chocolate at 100 % cocoa concentration in the studied methods ABTS, DPPH, FRAP and total phenols; with chromatography it was confirmed that chocolate with 100 % cocoa concentration presented the highest concentration of tyramine (8.38 mg/L), while that of 40 % showed the lowest amount (0.37 mg/L). Finally, it is concluded that by chromatographic method it was possible to quantify the presence of tyramine, obtaining a higher percentage in the chocolate with a higher concentration of cocoa in its preparation.

Key words: Cocoa, biogenic amines, tyramine, liquid chromatography, antioxidant capacity.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Descripción del problema de investigación

Jaén, provincia norte del departamento de Cajamarca es considerada zona con sobresaliente recurso biológico que contribuye a la buena formación de productos alimenticios. El cacao es considerado como uno de los alimentos de mayor abordaje debido a lo exquisito de sus características organolépticas que hacen del producto procesado, un producto único, siendo un producto reconocido, el chocolate en taza (Aprotosoai et al., 2016).

La Cámara Peruana del Café y cacao clasifica las especies de cacao Criollo como variedad natural de sabor medio que llega a producir la mejor calidad del cacao, Forastero que deriva de la variedad robusta y Trinitario considerado como una combinación de la diversidad Criollo y Forastero (Dostert et al., 2012; Erazo Solórzano et al., 2021).

Para procesar chocolate se requiere del cacao como materia primaria que puede mezclarse con diversos productos como lácteos, azúcares y/o edulcorante. El chocolate, para recibir dicha denominación, deberá contener, extracto seco, mayor al 35 % de extracto seco del total de cacao, constituido por 18 % como mínimo de manteca de cacao y 14 % como valor menor de extracto seco magro de materia de cacao (Codex Alimentarius, 2016).

Armuelles y Peñalba, (2023) indican para el proceso el cacao y obtención de chocolate se requiere de los granos frescos desprendidos de la vaina del cacao que serán puestos a fermentar de tres a siete días consiguiendo la licuefacción, la separación de pulpa mucilaginosa y el desarrollo de aroma, color y sabor logrando determinar la calidad del cacao en polvo obtenido. La etapa de secado se puede realizar de manera artesanal por secado solar al aire libre, actualmente para evitar el deterioro por bacterias se emplea horno secador de aire caliente. Para la etapa de tostado se debe de obtener la semilla que se encuentra dentro del grano de cacao, desarrollando el sabor y color final, distendiendo la cáscara, para lograrlo se requiere de una temperatura que oscile entre los 95 °C a 145 °C. Se sigue con la etapa de formación de croquetas, alcalinización, esterilización y prensado, etapa final en la que se separa la manteca de cacao del licor (material particulado no graso), el licor obtenido es insumo para la fabricación de chocolate.

Deus, Bispo, et al., (2021); do Carmo Brito et al., (2017); Erazo Solórzano et al., (2021) indican que la etapa de fermentación del grano de cacao es preponderante para la formación y concentración de aminas biógenas, estas son consideradas como compuestos que en condiciones adecuadas resulta beneficiosa para la salud. La tiramina y la histamina son aminas biógenas relacionadas con alteraciones alimentarias como intoxicación por ingesta de alimento; en el caso específico de intoxicación por tiramina se presenta

alteración arterial, cefalea y posible dificultad hipertensiva en personas con padecimiento hepático. (Dala-Paula et al., 2023).

La información con la que se cuenta respecto a la dosis permisible de tiramina en el organismo es limitada y dada la posibilidad de intoxicación por su consumo es que resulta importante realizar estudios que dilucidan la identificación y cuantificación de las mismas. El alimento seleccionado para la determinación de tiramina es el chocolate para taza, debido a que es un alimento de amplio consumo en las zonas cacaoteras y por estacionalidad.

1.2. Formulación del problema de investigación

¿Cuál es el método de cuantificación para la amina biógena tiramina en chocolate procesado para taza con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)?

1.3. Objetivo de investigación

Objetivo general

- Cuantificar tiramina en chocolate para taza a tres concentraciones de cacao (var. Forastero) procesado en el laboratorio de café y cacao de la Universidad Nacional de Jaén (UNJ)

Objetivos específicos

- Caracterizar el perfil sensorial del chocolate para taza a concentraciones de (100 %, 70 % y 40 %) de cacao a través de la valoración de juicio de experto.
- Determinar la capacidad antioxidante y contenido total de compuestos fenólicos del chocolate para taza obtenido a tres concentraciones de cacao de (100 %, 70 % y 40 %).
- Identificar tiramina (amina biogénica) en chocolate para taza a tres concentraciones de cacao mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

1.4. Formulación de la hipótesis de investigación

Si se aplica la metodología de cromatografía líquida de alta resolución en chocolate procesado para tasa, se identificará y cuantificará la concentración de aminas biogénicas (tiramina).

1.5. Justificación e importancia de investigación

El cacao es un grano obtenido de la semilla del *Theobroma cacao*, alimento conocido por sus características nutricionales, es procesado para obtener cacao en polvo,

manteca de cacao y licor de cacao, que representa el producto básico para el procesamiento de chocolate.

En estado natural, el cacao presente diversos compuestos bioactivos, polifenoles, aminas biogénicas, entre otros compuestos que salen a relucir durante o después del proceso de industrialización, Dada la característica de los componentes bioactivos y polifenoles de ser agentes favorables para el bienestar del ser humano y, las aminas biogénicas que surgen con la fermentación del grano, proceso propio de la descarboxilación microbiana de aminoácidos libres.

Dentro de aminas biogénicas presentes en los granos de cacao fermentado destaca tiramina, triptamina, feniletilamina (Palomino Vasco, 2021). La tiramina interactúa con los fármacos inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO), ocasionando crisis hipertensivas de consecuencias variables (Bressan Martin, 2020; Fuzikawa et al., 1999).

En Jaén, provincia perteneciente a Cajamarca, se procesa y comercializa chocolate en taza, obtenido del cacao cosechado en el mismo departamento o de zonas aledañas, de variedades Criollo, Forastero y Trinitario. El cacao Forastero, se distingue por ser variedad de baya verrugosa, de textura liza, de 18 a 20 cm de longitud (Moreno Fuentes, 2014), es una de las variedades más empleado para elaboración de chocolate en taza y, pese a su gran demanda no se ha estudiado en su debida magnitud la presencia de aminas biogénicas, más aún, en consideración a sus posibles efectos clínicos; en ese sentido, el análisis realizado se identifica y cuantifica la existencia de tiramina en chocolate para taza a diferentes concentraciones de cacao.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Subroto et al., (2022) estudiaron las propiedades fisicoquímicas, aceptabilidad sensorial y actividad antioxidante de una barra de chocolate enriquecido con nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) de ácido gálico, obteniendo como resultados que la adición de ácido SLN-gálico afectaba a las particularidades fisicoquímicas, sensoriales como también la actividad antioxidante de las tabletas de chocolate, a mayor concentración de adición de ácido gálico SLN mayor era la actividad fenólica total y antioxidante. El mejor tratamiento se obtuvo añadiendo 5 % de ácido SLN-gálico en tabletas de chocolate con un IC50 de 174.24 ± 2.48 .

Salman et al., (2022) cuantificaron la presencia de tiramina (TYM) en diferentes tipos de alimentos utilizando síntesis verde de puntos cuánticos de ficus carica como sonda fluorescente; la adición gradual de TYM a los puntos cuánticos de carbono de poliamina; para determinar la TYM se aplicó a alimentos como queso viejo, carne curada, salchichas, aceitunas en vinagre y conservas de pescado. Se concluyó que el límite inferior de cuantificación (LOQ) resultó ser de 1.68 mg mL^{-1} .

Deus, Bispo, et al., (2021) investigaron los cambios de aminas bioactivas durante la fermentación del cacao, emplearon una mezcla comercial de semillas de cacao Forastero (*Theobroma cacao L.*); determinando la presencia de aminas bioactivas a través de cromatografía líquida de fase inversa de par iónico, utilizando el sistema HPLC Shimadzu, encontraron feniletilamina a 60 h de fermentación y serotonina a 72 h de fermentación; los niveles de aminas biógenas totales predominaron entre 96 - 120 h.

Tuenter et al., (2021) estudiaron la composición fitoquímica y la comparación cuantitativa para el chocolate negro con leche y blanco con chocolate Rubí, lograron cuantificar un total de 19 compuestos: 18 en chocolate amargo, 15 en chocolate con leche, 13 en chocolate rubí y 2 en chocolate blanco. Estos compuestos incluyen flavan-3-oles, proantocianidinas, flavonoides, metilxantinas, aminoácidos, ácidos orgánicos y aminas biogénicas (triptamina, 5-hidroxitriptófano, serotonina, tiramina y Salsolinol).

Deus, Resende, et al., (2021) estudiaron técnicas de clonación para mejorar los rasgos agronómicos y responder a la demanda de chocolate fino; mediante análisis FTIR y técnicas convencionales predijeron concentraciones de aminas bioactivas, compuestos fenólicos y el potencial antioxidante del chocolate negro monoclonal. Los modelos quimiométricos basados en datos FTIR proporcionaron predicciones satisfactorias de las concentraciones de las aminas: espermidina, triptamina, cadaverina y tiramina; así como compuestos fenólicos y actividad antioxidante mediante Rancimat.

Tuenter et al., (2020) basaron su investigación en el licor de cacao y el chocolate producido desde granos de cacao de África Occidental y Ecuador, logrando identificar y cuantificar metabolitos secundarios, aminas biogénicas mediante HS-SPME GC-MS (cromatografía de gases de micro extracción en fase sólida con espacio de cabeza - espectrometría de masas). y UPLC-HRMS (cromatografía líquida de ultra rendimiento - espectrometría de masas de alta resolución). Las muestras de Ecuador contenían procianidina B2 y serotonina en cantidades relativamente altas, mientras que un nivel más alto de L-tirosina y la tiramina fue característica de las muestras de África Occidental.

Lemarcq et al., (2020) estudiaron cambios inducidos por el proceso de tueste en granos de cacao con respecto a la pirámide del estado de amino, logrando cuantificar aminas biogénicas (serotonina, triptamina, tiramina) y el salsolinol; el tostado a 130 °C durante 30 minutos presentó efecto positivo en el nivel de aminas biogénicas resultantes de la descarboxilación de aminoácidos. Concluyendo que los componentes que potencian la fase anímico, como la triptamina, la serotonina y el salsolinol, incrementaron notoriamente al tostarlos a 130 °C por un tiempo de 30 minutos, siendo negativo al llegar a tostar a 160 °C durante 30 min.

Quiroz-Reyes y Fogliano, (2018) diseñaron el procesamiento del cacao para obtener productos sanos optimizando la existencia de componentes fenólicos y melanoidinas. Las habas de cacao Forastero y Criollo procesadas mostraron, mayor contenido en grasa y elevado contenido fenólico, el tostado más severo disminuyó la centralización de componentes fenólicos totales en ambas variedades. La actividad antioxidante por DPPH fue más alta para la variedad Forastero (> 20 kDa). Concluyendo que un diseño apropiado del proceso de tostado y la selección adecuada de la variedad de cacao pueden optimizar el potencial saludable del cacao; especialmente las melanoidinas y los compuestos fenólicos.

Oracz y Nebesny, (2014a) estudiaron al proceso de tostado y su efecto en la presencia de aminas biogénicas en semillas fermentadas de siete muestras de cacao fermentado y seco de diferentes variedades. La evaluación cromatográfica se efectuó por cromatografía líquida UHPLC+ Dionex UltiMate 3000, identificadas por cotejo de periodo de parada de los espectros de absorbancia UV-visible y la cuantificación por método estándar interno. Lográndose observar un incremento de aminas biogénicas después del procedimiento de tostado de la semilla fermentada y secada de cacao, siendo la tiramina la amina con mayor presencia en los granos de cacao crudos, y para los granos tostados predominó la 2-feniletilamina.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Cacao

a. Definición

El grano de cacao es obtenido de las semillas del árbol *Theobroma cacao L.*, es considerado como el principal recurso para la elaboración de productos orientados al consumo masivo, como también lo es el polvo de cacao, el chocolate en barra y otros productos resultantes del cacao, que son muy afectos por los clientes a nivel mundial (Oracz y Nebesny, 2014a; Tuentner et al., 2021). El cacao posee aroma y sabor único que corresponde a la región de donde proviene, con los años se posicionado como una materia prima agrícola generadora de divisas al país (Gómez–Molina et al., 2019).

b. Variedad

En la actualidad se ha desarrollado programas de mejoramiento genético orientado a generar mayor rendimiento y resistencia a diversas plagas clasificándolo en 10 conglomerados principales o grupos (Motamayor et al., 2003), aunque la limitación tradicional de grupos, sin considerar base científica, lo resume en tres variedades de *Theobroma cacao*: criollo, forastero y trinitario.

Rodríguez-Velázquez et al., (2022) indica que la variedad de cacao criollo proviene de árboles esbeltos, cuyos frutos son estrechos y de color amarillo, generalmente con una cáscara delgada y decorativa, sus granos poseen una calidad superior en comparación con el cacao forastero y trinitario. Sin embargo, el cacao criollo presenta una baja producción y una mayor vulnerabilidad ante plagas; la producción global de cacao del 5 al 10 por ciento proviene de esta variedad. El cacao Criollo se considera de excelente calidad porque tiene un aroma intenso, un amargor reducido, una pulpa dulce y sabores que recuerdan al caramelo y a las nueces (Erazo, 2025; Erazo Solórzano et al., 2021).

Erazo Solórzano et al., (2021); Rodríguez-Velázquez et al., (2022) respecto a la variedad forastero indican que sus frutos tienen forma amelonada, poseen cubierta resistente y leñosa con una textura relativamente suave y semillas aplanadas, son de color verde y las semillas son de calidad inferior en comparación con el cacao criollo se distinguen por su mayor resistencia a enfermedades en relación al cacao criollo, esta variedad se desarrolló en las zonas elevadas de la cuenca amazónica (entre los ríos Napo, Putumayo y Caquetá), representando aproximadamente el 80% de la producción global de cacao, siendo la variedad de mayor comercialización; los granos de cacao criollo y forastero destacan por su intenso aroma y sabor, recibiendo el reconocimiento de "cacaos finos o aromáticos". Los frutos tienen una forma alargada y un color verde.

Rodríguez-Velázquez et al., (2022) cree que esta variedad se formó cuando un tipo criollo se cruzó de manera natural con un forastero brasileño, las muestras presentan rasgos morfológicos y genéticos de ambas razas. Esta variedad apareció en Trinidad y Tobago. Tiene granos de tamaño medio a grande y cotiledones que son de un tono marrón, es más resistente a enfermedades y produce más que el cacao criollo, aunque su calidad es inferior. El cacao trinitario representa del 10 al 15 por ciento de la producción a nivel mundial. Se cultiva en lugares como Granada, Jamaica, Trinidad y Tobago, Colombia, Venezuela y en la región de América Central (Erazo, 2025) .

Figura 1

Variedad de cacao (*Theobroma cacao* L.)



c. Taxonomía

Dostert et al., (2012) brinda un alcance respecto a la taxonomía del cacao.

Tabla 1

Taxonomía del cacao (*Theobroma cacao* L.)

Característica	
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Dicotiledónea
Clase	Dilleniidae
Orden	Malvales
Familia	<i>Malvaceae</i>
Subfamilia	<i>Sterculioideae</i>
Género	<i>Theobroma</i>
Especie	<i>Theobroma cacao</i> L.
Subespecie	(i) <i>Theobroma cacao</i> L. subesp. cacao: grupo criollo (ii) <i>Theobroma cacao</i> L. sphaerocarpum (chev.): grupo forastero.

Nota: Tomado de Dostert et al., (2012)

Tabla 2

Delimitación de la subespecie de *Theobroma cacao* L.

Órgano	<i>Theobroma cacao</i> subsp. <i>cacao</i>	<i>Theobroma cacao</i> subsp. <i>Sphae</i>
Forma del fruto	Alargado, claviforme, fusiforme o anguloso-ovalado, mitigado hacia el soporte y apicalmente apiculado	Elíptico, casi esférico o más o menos cuadrado, redondeado en ambos bordes
Superficie del fruto	Alrededor de 10 costillas notables o con 5 costillas y rugosa	10-surcada y lisa o levemente rugoso
Pericarpo y mesocarpo	Pericarpo moderadamente rugoso, mesocarpo leñoso delgado	Pericarpo muy delgado, mesocarpo leñoso robusto
Semillas	Ovadas o elípticas, normalmente redondas em vista transversal	Ovadas, poco comprimidas.
Cotiledones	Amarillos o blanco-amarillentos	Púrpuras o violeta oscuros

Nota. Tomado de Dostert et al., (2012)

d. Composición química del grano de cacao

El grano de cacao presenta composición química variable, esto en consideración a factores como la variedad, índice de madurez, estado de fermentación y tiempo de secado. Los componentes químicos del grano de cacao son: el contenido de agua, grasa, materia nitrogenada (proteínas y purinas), almidón y compuestos fenólicos (Aldave Palacios, 2016).

Tabla 3

Composición química del grano de cacao (Theobroma cacao L.)

Compuesto	Para 100 gramos de muestra
Agua	3 - 7
Grasas (%)	50 - 58
Triacilglicéridos (%)	97
Ácido palmítico	24.1 - 27.1
Ácido esteárico (%)	32.9 - 37.6
Ácido oleico (%)	32.7 - 37.6
Ácido linoleico (%)	2.3 - 3.7
Proteínas (%)	10 - 15
Almidón (%)	6
Celulosa (%)	9
Glucosa, fructosa, sacarosa	0.08 - 1.5

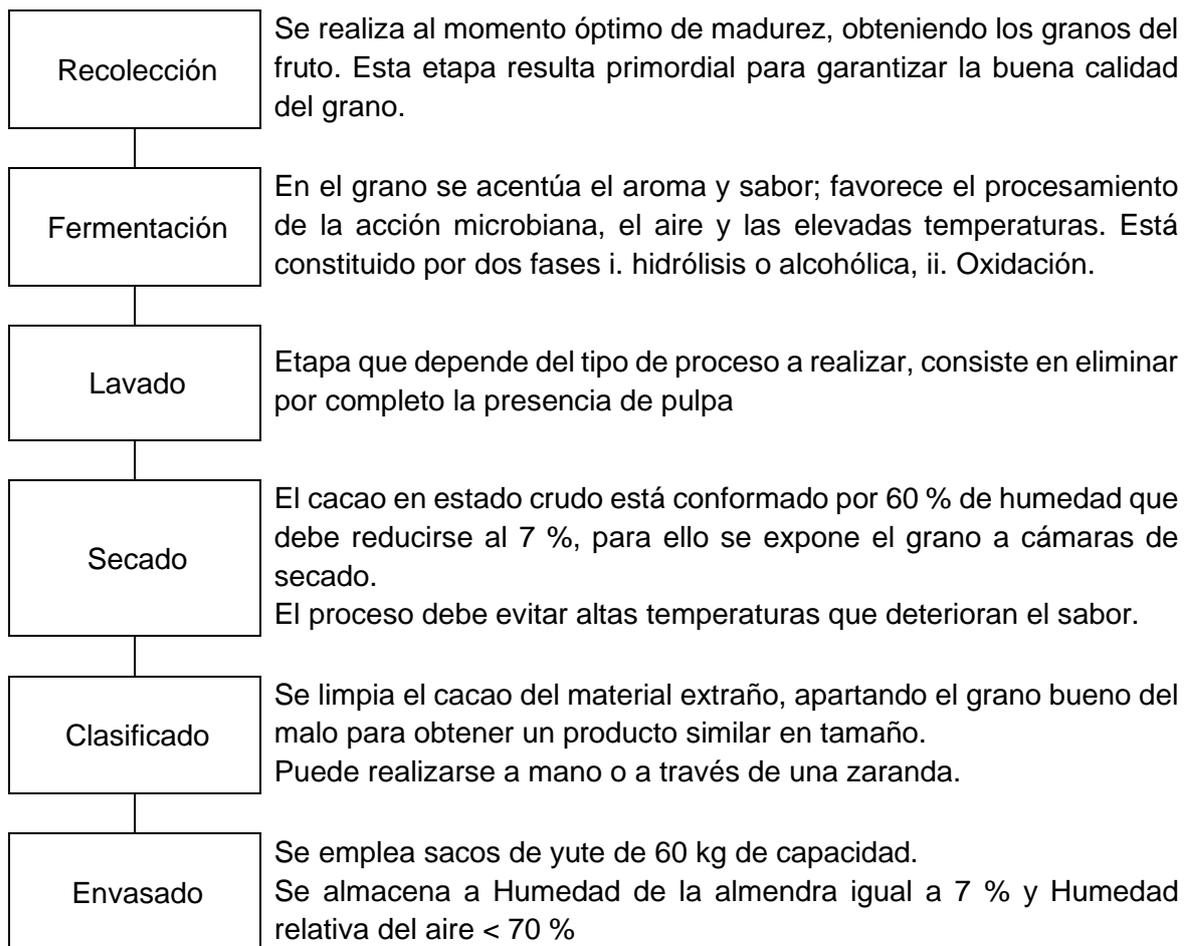
Nota. Tomado de Rodríguez-Velázquez et al., 2022

e. Postcosecha

Considerando lo mencionado por Oliveras Sevilla, (2007), una vez obtenido la almendra del cacao es necesario proceder con el tratamiento postcosecha siguiente:

Figura 2

Proceso de beneficio del cacao



Nota. Adaptado de (Oliveras Sevilla, 2007)

El procedimiento inicia con la transformación del producto recolectado en campo y culmina como un producto a comercializar se le conoce como beneficio del cacao.

2.2.2. Chocolate

a. Definición

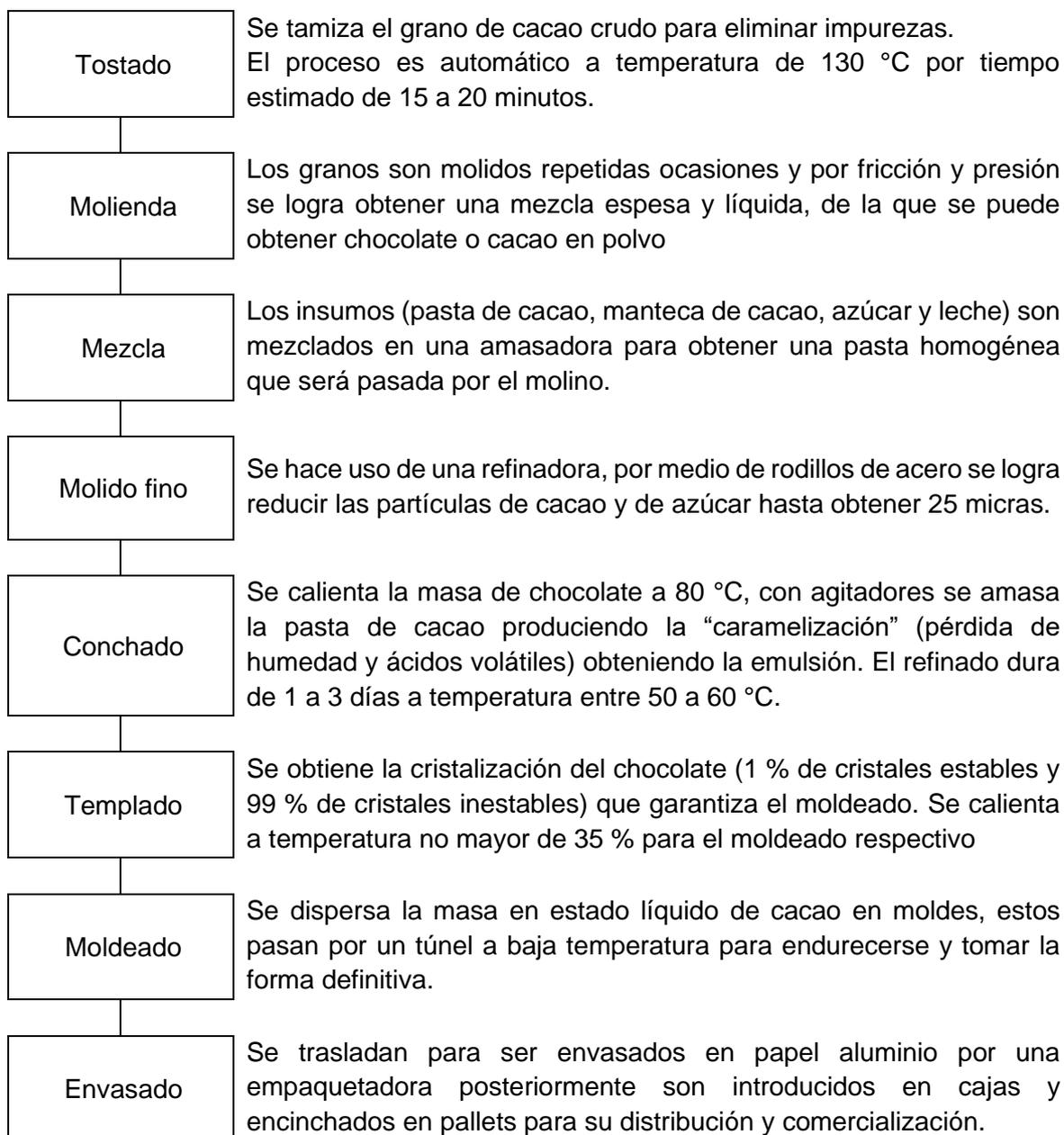
Denominación común que se brinda al adecuado procesamiento basado en la transformación del cacao que son susceptibles a unirse con productos lácteos, azúcares, edulcorantes u otros insumos regulados. La obtención de diversos productos de chocolate es posible adicionar una gran variedad de alimenticios comestibles como los excluidos de la harina del almidón y distintas grasas animales (no vacuno) (Codex Alimentarius, 2016).

b. Procesamiento

Oliveras Sevilla, (2007) detalla el proceso automatizado para la elaboración de chocolate indicando que las etapas principales son: tostado, molienda, mezcla, molido fino, conchado, templado, moldeado y envasado; existe una etapa adicional denominada alcalinizado, esta es empleado cuando se requiere obtener polvo de cacao desgrasado.

Figura 3

Proceso de obtención de chocolate para taza



Nota. Adaptado de Oliveras Sevilla, (2007)

2.2.3. Compuestos bioactivos

Es considera como metabolito de carácter secundario (Nyayiru Kannaian et al., 2020) o como sustancia química presente en cantidades pequeñas pudiendo ser de origen vegetal y animal (Al-Shamsi et al., 2018; Nyayiru Kannaian et al., 2020), con la peculiaridad de aportar beneficio a la salud de quien lo consume. (Robles-Valdivia et al., 2022)

Para Robles-Valdivia et al., (2022) los componentes bioactivos entran en la categoría de nutraceuticos, y están considerados componentes esenciales y no esenciales que se generan en estado natural, formando parte de la cadena alimentaria.

El reino vegetal distingue cuatro agrupaciones de compuestos bioactivos, siendo tres de ellos (sustancias fenólicas, sustancias terpénicas, sustancias azufradas) de requerimiento en la agroindustria para ser constituyente de frutas y vegetales, y el cuarto no (sustancias nitrogenadas como el alcaloides) (Chacón Ortiz et al., 2021).

a. Compuestos fenólicos

Su principio basa en las especies vegetales, en la actualidad se regulan de manera genética (cuantitativa y cualitativa). Se sabe que, al estar herida una planta, esta segregará fitoalexinas (fenoles de defensa para una posible agresión fúngica o bacteriana), favorecen a la pigmentación de la planta, de igual modo, al ser oxidados los fenoles, generan una coloración parda a las quinonas, siendo en repetidas ocasiones indeseable (Espín y Samaniego, 2016; Quesada-Arguedas et al., 2024).

b. Compuestos no fenólicos

- Sustancias terpénicas

Pico Hernández et al., (2019); Quesada-Arguedas et al., (2024) indica que Estas son moléculas lineales formadas por unidades isoprenosas de polímero con propiedades antioxidantes que protegen los lípidos y los componentes celulares, como los radicales, el superóxido y los ataques hidroxilo reactivos, como el oxígeno, el superóxido y los grupos hidroxilo reactivos. Los terpenos conocidos son el L (+) limoneno, el escualeno y los carotenoides, ampliamente distribuidos en productos vegetales verdes, cereales y leguminosas (Gamez-Villazana, 2022).

- Sustancias azufradas

Gamez-Villazana, (2022) los considera compuestos órgano-sulfurados, pudiendo ser hidrosolubles o liposolubles y caracterizado por tener elevada actividad antioxidante.

- Sustancias no nitrogenadas

Biológicamente son considerados extremadamente activos en todo el reino vegetal, pudiendo generar inconveniente tóxicos aún si se emplearan mínimas cantidades, destaca el caso del alcaloide de la solanina en la papa (Izcara Sierra, 2023)

Tabla 4

Estudios que indican el método-equipo empleado para el análisis de compuestos bioactivos presentes en alimentos

Alimentos	Método - equipo	Compuesto bioactivo	Referencia
Queso añejo, embutido, aceitunas encurtidas y conservas de pescado.	Puntos de carbono de síntesis verde de Ficus carica	Tiramina	(Salman et al., 2022)
Cacao	Análisis multivariable, proceso de fermentación	Aminoácidos libres y aminos bioactivas	(Deus, Resende, et al., 2021)
Cerveza de: cereza, frambuesa, durazno, albaricoque, uva, ciruela, naranja y manzana	HPLC	Flavonoide, Catequina, Quercetina, Miricetina, Resveratrol, Ácidos fenólicos clorogénico, neoclorogénico.	(Nardini y Garaguso, 2020)
Vinos	HPLC acoplado a espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (MS/MS)	Ácido gálico, ácido cafeico, Quercitina, Ácido fenólico, resveratrol	(Valentin et al., 2020)
Calabaza amarga o Melón amargo	Extracción asistida por ultrasonido (EAU): normal y pulsado	Polifenoles totales	(Chakraborty et al., 2020)
Aroeira (Pimienta Brasileña o Rosa)	U-HPLC Espectrometría de masa iónica	Flavonoides, Biflavonoides, Caroteno, Ácido linoleico	(de Oliveira et al., 2020)
Maracuyá (pasiflora setacea)	HPLC Shimadzu espectrofotómetro	Perfil flavonoides, Aminos bioactivas, Vitamina C, Fenoles.	(Ortega-Sanchez et al., 2020)
Bagazo de maracuyá	Extracción de lípidos a presión (PLE) asistida por ultrasonido	Compuestos fenólicos, Piceatannol, Estilbeno	(Viganó et al., 2020)
Guanábana y Polvo de guanábana	Extracción con absorción de barra agitada (SBSE) con el sistema GC-MS	Fenoles totales, Carotenoide, Flavonoide	(Santos-Leite Neta et al., 2019)
Leche de camello	Electroforesis, HPLC	Péptidos bioactivos	(Al-Shamsi et al., 2018)
Vinos cabemet sauvignon	Espectroscopía (FT-MIR) infrarroja media por transformada de Fourier	Fenoles totales, Antocianinas totales, Taninos, flavonoides	(Grijalva-Verdugo et al., 2018)
Te de hierbas	Método colorimétrico HPLC	Polifenoles totales, flavonoides, proantocianidinas, taninos, carotenoides, alcaloides	(Qasim et al., 2017)

Nota. Adaptado de "Avances en la determinación de compuestos bioactivos en alimentos" (Gamez-Villazana, 2022)

c. Capacidad antioxidante

La acción antioxidante en un alimento es considerado como la aptitud de sus componentes fitoquímicos (antioxidantes) para causar oxidación de los radicales libres, son consideradas reactivas, pudiendo causar daños celular en el organismo (de Souza et al., 2014; Muñoz et al., 2022; Ramos-Escudero et al., 2021). Dentro de los métodos de determinación de la capacidad antioxidante tenemos:

- Método ABTS

El Cation radical o prueba de cambio de ABT [2,2-azobis- (3-oTilbenzotiazolina-6-sulfónica] y absorción secundaria máxima hasta 660,734 y 820 nM proporciona un color verde azulado. Cuando el trolox (vitamina analógica soluble E). Como predeterminado, el método se llama TAC (Capacidad antioxidante equivalente de Trolox) (Dorantes-Salazar et al., 2023; Londoño Londoño, 2012)

- Método DPPH

Este ensayo fue inicialmente propuesto por la marca: Williams66. El DPPH es uno de los radicales orgánicos estables, muestra un color púrpura fuerte, es comercialmente accesible y no es necesario crear como ABTS. El ensayo se basa en una capacidad antioxidante para estabilizar el DPPH radical. La reacción de estabilización se cree principalmente a través de la inversión marginal de TAH (Dorantes-Salazar et al., 2023; Londoño Londoño, 2012).

- Método FRAP

La capacidad de reducción de hierro para la potencia de plasma/ antioxidante en la reducción de hierro (FRAP) se basa en la capacidad del fenol para reducir el complejo triyridilo triyil negro amarillo (confianza (Fe(III) - TPTZ (2, 4, 6-tri(2-Piridil)-1, 3, 3, 5-triazina)) complejo negro azul (Fe(II) - TPTZ) después del antioxidante Efectos de los donantes de electrones. La absorción se puede medir para verificar la cantidad de hierro reducido y se puede correlacionar con la cantidad antioxidante (Dorantes-Salazar et al., 2023).

2.2.4. Aminas biógenas

a. Generalidades

A los compuestos nitrogenados, no protéico se les denomina aminas biógenas es factible encontrarlos en diferentes alimentos. Entre los mas habituales destacan la histamina, tiramina, putrescina, cadaverina, triptamina, β -feniletilamina, espermina y espermidina. El procedimiento de análisis recomendado y empleada establece la presencia de esta composición es la denominada cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

debido a que este procedimiento denota precisión, exactitud y especificidad (Matissek, 2023).

Río et al., (2020); Rivero y Sanz, (2017) indica que desde la perspectiva de la biología, las aminas biógenas presentan funcionalidad específica en relación al organismo que lo contiene es decir, en vegetales algunas aminas biogenas participan en el desarrollo celular como conclusión al estrés generado o al envejecimiento propio del proceso, un caso práctico es la participación de aminas en la transmisión nerviosa o control de la presión sanguínea en animales.

Pese al requerimiento de este tipo de compuesto, investigaciones indican que el proceso de descarboxilación de los aminoácidos al cual es sometido el alimento debida a la intervención de microorganismos (dando origen a la producción de aminas biógenas) y la subsiguiente ingesta en elevadas acumulación produce consecuencias dañinas para el ser vivo que lo consume (do Carmo Brito et al., 2017; Rivero y Sanz, 2017; Silva et al., 2023). La intoxicación de alimentos por histamina es la mas usual de encontrar, es originada por la histidina, elemento que en determinadas condiciones es producida por el consumo de pescados; otro componente que destaca es la tiramina (originado por la tirosina) es frecuente en el consumo de quesos, en su gran mayoría (Rivero y Sanz, 2017) y derivados de cacao (Silva et al., 2023). Es contraproducente la disposición de aminas biógenas en elevadas concentraciones, se vuelve desacertado para el ser humano, como es el caso de la cadaverina y la putrescina que tienden a potenciar la acción de otras aminas biógenas, dando lugar a la generación de nitrosamidas, pese a lo descrito, la histamina es la única amina biógena que se encuentra regulada por let en la Unión Europea por el Reglamento N° 1019/2013, fechada el 23 de octubre de 2013.

b. Tiramina

Para Salman et al., (2022) la tiramina es una amina biológicamente activa. En consideración a su estructura química la tiramina pertenece al grupo de aminas aromáticas (Leonard et al., 2022; Rivero y Sanz, 2017). Para Dai et al., (2024) la tiramina se ha considerado un peligro biológico para alimentos y bebidas.

La tiramina (TYM) es un compuesto liberador de catecolaminas y causantes de crisis hipertensivas a causa de una combinación con inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO); por lo que resulta esencial realizar análisis a diversos alimentos (queso añejo, embutidos, aceitunas encurtidas, conservas de pescado y chocolates) para los pacientes hipertensos y para la mejora de las industrias alimentarias (Salman et al., 2022). Es considerada entre las aminas biógenas como la de mayor efectividad entre las aminas presoras (Salman et al., 2022). Da lugar con la maduración de frutas y verduras, como

también en el procesado y añejado de muchos alimentos, por la descarboxilación bacteriana de la tirosina (Lan et al., 2024; Paparella et al., 2025).

De las amina biogénica, la tiramina es considerada con mayor prevalencia en productos alimenticios generada por descarboxilación de la tirosina (Lan et al., 2024; Yao et al., 2024). Alimentos y bebidas fermentados (Amenu y Bacha, 2024; Famakinwa et al., 2024; Zhang et al., 2019), como quesos, pescados fermentados, salsas de soja, vinos y otros, probablemente contengan un cierto nivel de tiramina (Leonard et al., 2022; Zhang et al., 2019).

La tiramina, que se incluye en la dieta, actualmente no tiene un efecto hipertensivo porque el nivel de la pared intestinal y el hígado es una oxidasa-monoamine enzima, que antes de la circulación entra en la tiramina oxidada a su derivado inofensivo del ácido fenólico (khan y Nawaz, 2016)

III. METODOLOGÍA

3.1. Método de investigación

El método de la investigación es aplicada, experimental y cuantitativa.

3.2. Diseño de investigación

El diseño del estudio es de tipo experimental y de enfoque cuantitativo.

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

Cacao en grano de variedad forastero cosechado en la provincia de Jaén entre los meses de marzo - abril de 2023.

3.3.2. Muestreo

No probabilístico por conveniencia

3.3.3. Muestra

40 kg de cacao en grano de variedad forastero del distrito de Bellavista, provincia de Jaén cosechado entre los meses de marzo - abril de 2023, de los cuales se procesó chocolate para taza a concentraciones de 100 %, 70 % y 40 % de cacao.

3.4. Operacionalización de las variables de estudio

La operacionalización se basa en la definición conceptual y operacional de las variables de estudio como también su dimensionamiento e indicadores.

Tabla 5

Operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Dimensión	Definición operacional	Indicador		
				Insumo	Especificación	
Independiente	Formulación de chocolate para taza	Cantidad de cacao utilizado para procesar chocolate procesado para taza.	Concentración de cacao: 100 %, 70 %, 40 %	Obtención de chocolate para taza a concentraciones de cacao diferentes (var Forastero)	Extracto seco (ES) de cacao Manteca de cacao Almidón Extracto seco magro (ESM) de cacao	≥ 35 % ≥ 18 % ES < 8 % ≥ 14 % ES
	Perfil sensorial	Opinión calificada de un experto para estimar valores cuantitativos y cualitativos en una muestra específica	Caracterización sensorial	Determina atributos del perfil sensorial del chocolate procesado evaluado bajo la ficha sensorial de licor de cacao.	Intensidad (0-10) Descripción del atributo del perfil sensorial (cualitativo) Calidad (0-10)	
	Actividad antioxidante	Es la capacidad del chocolate para taza para evitar la degradación oxidativa, por la cual para retener los radicales libres.	Capacidad antioxidante equivalente a un Estándar: ABTS, DPPH, FRAP	Determina la capacidad antioxidante de cacao concentración en chocolate para taza, atrapa el radical 2,2-difenil-1-picryl-hidrazil-hidrato (DPPH), con estándar Trolox. FRAP, ABTS	DPPH: (µmol Trolox equivalente/g) FRAP: (µmol Fe ²⁺ /g) ABTS: (µmol TE/g)	
Dependiente	Contenido de Fenoles totales	Contenido total de compuestos que poseen el grupo fenol unido a estructuras aromáticos o alifáticas que posee un aceite esencial.	Caracterización química	Cuantificación de grupo fenol en chocolate para taza asociados al reactivo de Folin-Ciocalteu. La cuantificación se hace con el estándar ácido gálico.	mg de equivalentes de ácido gálico / 100 g de AE	
	Cuantificación de tiramina	Bases orgánicas de bajo peso molecular que tienen una alta actividad biológica (Oracz y Nebesny, 2014b)	Compuesto amino específico (tiramina)	Identificación y cuantificación de tiramina en función al espectro líquido y determinación de su cantidad relativa en consideración al área total de los picos del compuesto amino tiramina en un cromatograma.	mg tiramina /100g chocolate procesado	

3.5. Técnicas e instrumento de recolección de datos

Para la recolección de datos se utilizarán técnicas de evaluación e instrumentales.

Tabla 6

Síntesis de los métodos, técnicas e instrumentos empleados para la recolección de datos

Evaluación	Método	Técnica	Instrumento
Obtención de muestra	Aleatorio simple	Inspección visual	Proceso productivo
Caracterización de atributos	Juicio de expertos	Perfil sensorial	Ficha de evaluación sensorial del licor de cacao
Componentes antioxidantes	Ensayo ABTS, DPPH y FRAP	Fluorescencia	Espectrofluorímetro
Compuestos fenólicos	Método de Folin-Ciocalteu	Espectrofotométrica	Espectrofluorímetro
Determinación de aminas biógenas	Cromatográfico	Cromatograma líquido	Cromatograma

3.5.1. Obtención de chocolate para taza

Para la obtención del chocolate para taza se consideró cacao de variedad forastero, obtenido del distrito de Bellavista, provincia de Jaén; la materia prima fue trasladada al Centro de producción de Café y Cacao de la Corporación Universitaria de la Universidad Nacional de Jaén (UNJ) con insumos adicionales como: manteca de cacao (var. forastero), almidón de trigo y extracto seco magro de cacao (var. Forastero)

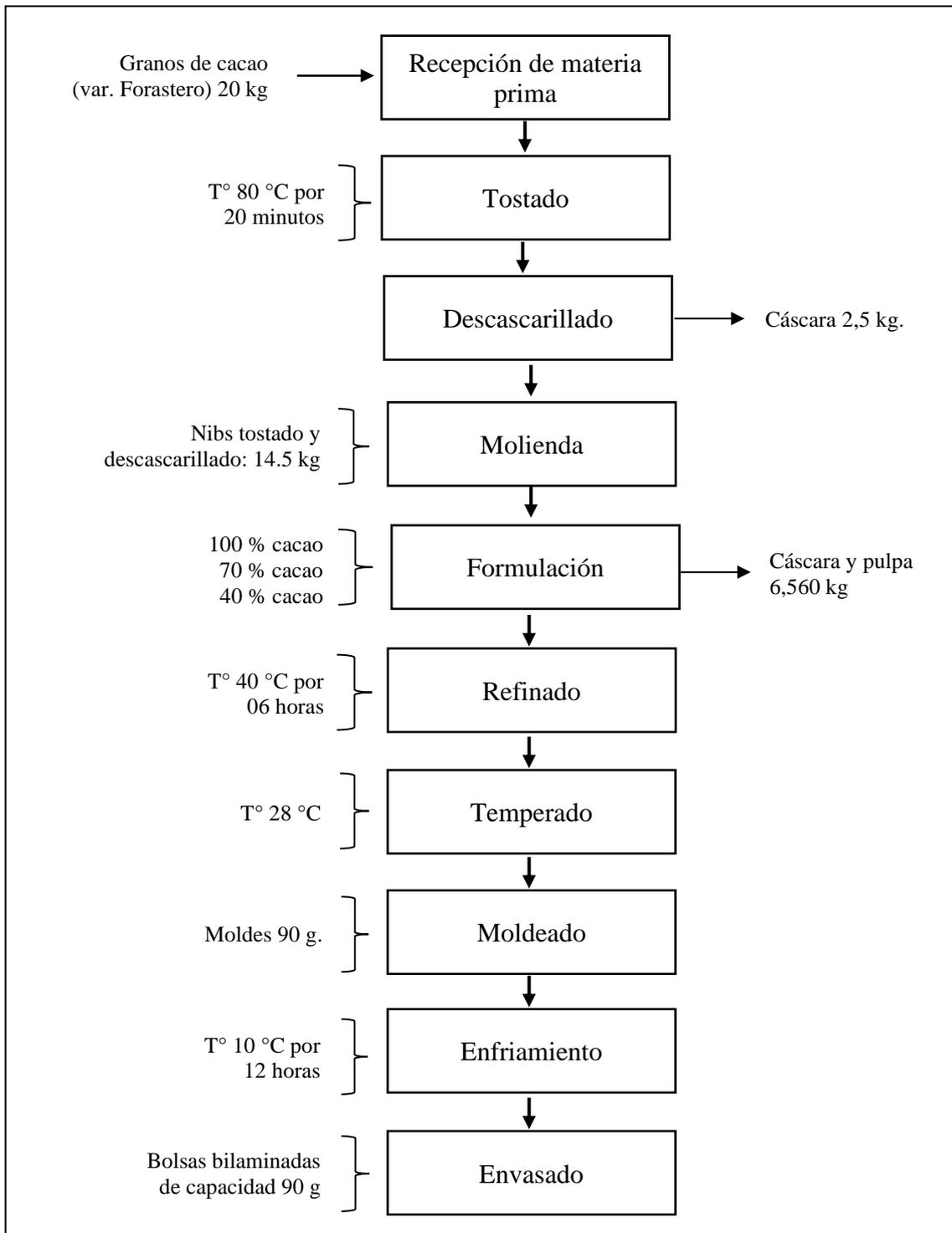
Descripción del proceso para obtener de chocolate para taza al 100, 70 y 40 % de cacao

- Recepción de materia prima: al centro de producción de café y cacao de la UNJ ingresó 20 kg de granos seleccionados de cacao (var. Forastero), con humedad relativa de 8%
- Tostado: se realizó a una temperatura de 80°C durante 20 minutos, obteniendo del proceso 17 kg de granos de café tostado.
- Descascarillado: se procedió a retirar la cáscara deshidratada de los granos de cacao tostado, obteniendo 14,5 kg de nibs de cacao.

- Molido: con un molino de discos semi industrial hechizo se molieron los nibs procedentes del proceso anterior para obtener producto requerido.
- Formulación: en consideración al Codex Alimentarius, (2016) se obtuvo las proporciones requeridas de los nibs molidos y demás insumos para en el proceso de elaboración de chocolate para taza al 100, 70 y 40 % de cacao (Tabla 6).
- Refinado: una vez homogenizado los insumos obtenidos para la formulación al 40 % de cacao se procedió al refinado durante 6 horas a una temperatura de 40 °C. El proceso se repitió para la formulación al 70 % y 100 % de cacao.
- Temperado: la obtención de pasta del moldeado, el producto obtenido del refinado se sometió a una temperatura de 28 °C, homogenizando la masa para la etapa siguiente.
- Moldeado: en moldes de policarbonato estandarizados con peso de 90 gramos se colocó la mezcla temperada de chocolate para taza con concentración de cacao al 100, 70 y 40 %.
- Enfriamiento: a temperatura de 10 °C y por 12 horas se procedió a la refrigeración del chocolate en los moldes respectivos, conservándolos hasta su posterior desmoldeado.
- Envasado: el chocolate para taza se desmoldó, envasó y rotuló en bolsas bilaminadas de 90 g de capacidad, para su posterior análisis y evaluación.

Figura 4

Diagrama de flujo de proceso de elaboración de chocolate para taza a 100, 70 y 40 % de cacao



Formulación para obtener de chocolate para taza al 100, 70 y 40 % de cacao

En consideración a los indicado en el Codex Alimentarius, (2016) respecto a la elaboración de chocolate para taza, se realizó los cálculos para la formulación al 100, 70 y 40 % de cacao

Tabla 7

Formulación empleada para elaborar chocolate para taza al 100, 70 y 40 % de concentración de cacao (var. Forastero)

Insumo	Especificación	100 % de cacao		70 % de cacao		40 % de cacao	
		%	Kg	%	Kg	%	Kg
Extracto seco (ES) de cacao	≥ 35 %	100	2.60	70	1.820	40	1.040
Manteca de cacao	≥ 18 % ES	--	--	8	0.208	3	0.078
Almidón	< 8 %	--	--	7	0.182	7	0.182
Extracto seco magro (ESM) de cacao	≥ 14 % ES	--	--	15	0.390	50	1.300
Total			2.60		2.60		2.60

3.5.2. Perfil sensorial

La evaluación del perfil sensorial estuvo a cargo de tres catadores certificados, las muestras fueron codificadas en consideración a la concentración de cacao y al número de repetición, los evaluadores recibieron información previa del producto más no de las concentraciones de cacao que tenían cada una de las muestras, evitando suspicacia al momento de la evaluación. El proceso inició con la disposición de nueve muestras de chocolate para taza por catador, las mismas que representaron a las concentraciones del 100, 70 y 40 % de cacao con sus muestras por triplicado.

Con apoyo del instrumento denominado “Ficha de evaluación sensorial de licor de cacao” (Anexo 3) se procedió a la cata de cada muestra considerando descriptores de olor, aroma, acidez, amargor, astringencia, sabor (cacao, dulzor, frutas secas, frutas frescas, nuez, floral, especias, otros), regusto y defecto (Murcia-Artunduaga et al., 2022), para lo cual se tomó 10 gramos aproximadamente por muestra para su respectiva evaluación, antes de pasar a la muestra siguiente se consumió un trozo de galleta y agua para limpiar el paladar. Una vez concluida la evaluación, fue consolidada para su posterior análisis.

3.5.3. Actividad antioxidante

Para la determinar la capacidad antioxidante requeridos de métodos estandarizados como el DPPH, ABTS que se analizan por medio del trolox, el FRAP que considera los iones de hierro en su análisis y el contenido de fenoles totales, se detalla el procedimiento:

a. Desgrasado de las muestras de chocolate para taza

Según los estudios de (Fernández-Romero et al., 2020; Summa et al., 2006) con algunas adaptaciones, el polvo de chocolate fue desengrasado utilizando éter de petróleo. Para ello, se tomaron 10 gramos de chocolate rallado y se colocaron en tubos Falcon de 50 ml. Posteriormente, se añadieron 40 ml de éter de petróleo y se sometió la muestra a centrifugación a 10000 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 4 °C en una centrífuga refrigerada. Después de la centrifugación, se eliminó el sobrenadante. El material desengrasado obtenido se dejó secar con aire a temperatura ambiente durante un período de 24 horas.

b. Preparación del extracto de las muestras

Se tomó un gramo de muestra desgrasada para obtener los extractos y se añadieron 10 mL de metanol-agua (80:20, v/v), tal como se describe en Brand-Williams et al., (1995); Medina-Mendoza et al., (2023). Posteriormente, el extracto se llevó a centrifugar a 10000 rpm durante 10 min, luego se filtró con papel de filtro (Whatman N°40) y el sobrenadante se mantuvo refrigerado en ausencia de luz. El extracto preparado se utilizó para analizar el contenido fenólico total y la Capacidad antioxidante

c. Capacidad antioxidante

La Capacidad antioxidante se determinó mediante los métodos ABTS, DPPH y FRAP.

d. Para el ensayo de ABTS

El procedimiento siguió el método de de Souza et al., (2014); Re et al., (1999). El catión radical ABTS^{•+} se generó mediante la reacción de 5 ml de solución acuosa de ABTS (7 mM) con 88 µL de persulfato de potasio 140 mM (concentración final de 2,45 mM). La mezcla se mantuvo en la oscuridad durante 16 h antes de su uso y luego se diluyó con etanol para obtener una absorbancia de $0,7 \pm 0,05$ unidades a 734 nm usando un espectrofotómetro. Se dejó que los extractos de fruta (30 µL) o una sustancia de referencia (Trolox) reaccionaran con 3 ml de la solución radical ABTS azul-verde. La disminución de la absorbancia a 734 nm se midió después de 6 min.

Para la calibración se utilizaron soluciones etanólicas de concentraciones conocidas de Trolox. Los resultados se expresan como micromoles de equivalentes de Trolox (TE) por gramo de peso fresco (μmol de TE/gm).

e. La capacidad de eliminación de radicales libres del DPPH

Se estimó utilizando el método de Brand-Williams et al., (1995); Ramos-Escudero et al., (2021) con algunas modificaciones. Brevemente, la solución de DPPH ($600 \mu\text{M}$) se diluyó con etanol para obtener una absorbancia de $0,7 \pm 0,02$ unidades a 517 nm . Se dejó que los extractos de fruta ($0,1 \text{ ml}$) o una sustancia de referencia trolox reaccionaran con $3,9 \text{ ml}$ de la solución de radicales DPPH durante 30 minutos en la oscuridad y se controló el aminoramiento de la absorbancia de la solución resultante. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente con agitación utilizando un mezclador vórtex. La absorbancia de la mezcla de reacción se midió a 517 nm . El resultado de la capacidad antioxidante total se expresó como mmol equivalente de trolox/g de muestra (mol TE/g).

f. Para el ensayo de FRAP

Se tomó como referencia a (Melo et al., 2021; Pulido et al., 2000) con algunas modificaciones, el reactivo FRAP se preparó haciendo un mezcla de 0.3 M tampón acetado ($\text{pH } 3,6$), 0.1 M TPTZ diluido en ácido clorhídrico 0.4 M y 0.2 M de cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en proporción de 10:1:1 de cada reactivo. El reactivo se pipeteo a tubos de ensayo 2.7 ml , a continuación, se le agrego $90 \mu\text{l}$ de muestra y $270 \mu\text{l}$ de agua destilada, luego se llevó a baño maría a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 4 minutos, finalmente se pasó lectura a 593 en un espectrofotómetro (marca: EMCLAB, modelo: EMC-11-UV, fabricado en Alemania). El potencial antioxidante se determinó a partir de una curva de calibración lineal de sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) de 200 a $3800 \mu\text{M}$ de concentración ($y = 0,0006x + 0,0853$, y $R^2 = 0.9949$). Todas las muestras se realizaron por triplicado. Los resultados finales fueron expresados en $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{gm}$.

g. Contenido de Fenoles Totales (TPC)

Se determinó siguiendo los procedimientos de (Fernández-Romero et al., 2020; Singleton et al., 1999) con algunas modificaciones. El extracto ($0,1 \text{ mL}$) se mezcló con $2,5 \text{ mL}$ de reactivo de Folin-Ciocalteu y a continuación, se añadieron 2 mL de solución de carbonato de sodio. Los reactivos se mezclaron agitando vigorosamente durante 10 segundos con un vórtex. La mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 2 h antes de medir la absorbancia a 760 nm con un espectrofotómetro. Se diluyó una curva estándar de ácido gálico en metanol al 70 % ($10\text{-}100 \mu\text{g/mL}$) para crear una curva de

calibración. El contenido fenólico total se expresa como mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mg GAE/g). Todas las muestras se analizaron por triplicado.

3.5.4. Identificación y cuantificación de tiramina

Se consideró la metodología adaptada de Ai et al., (2021); Chiacchierini et al., (2006) aplicado al chocolate procesado para taza.

a. Toma de muestra

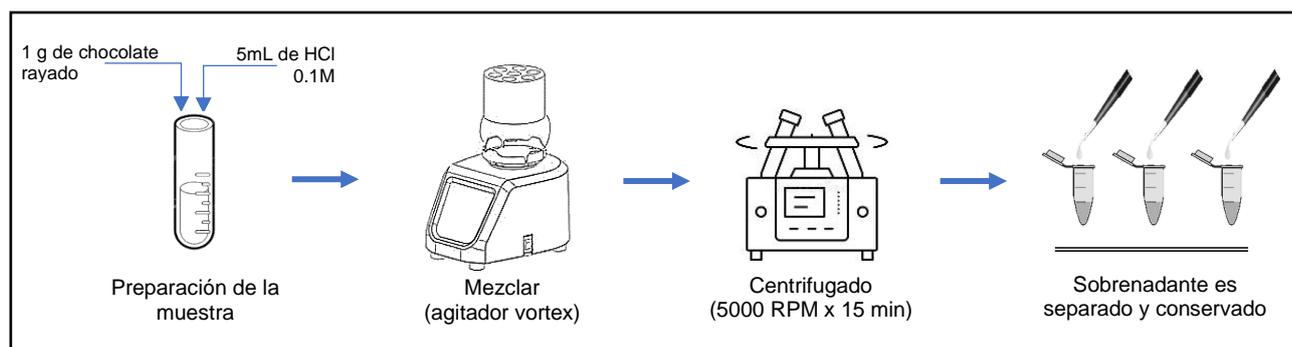
La muestra requerida para el análisis fue chocolate para taza procesado en el centro de producción de café y cacao de la Cooperación Universitaria de la Universidad Nacional de Jaén considerando la concentración de cacao al 100, 70, 40 % (Tabla 7).

b. Preparación de la muestra

Según el estudio de Llerena et al., (2023) con algunas adaptaciones. Se tomó 1 g chocolate rayado y se colocó en un tubo de ensayo de 15 mL que contenía 5 mL de HCl 0.1M, se dejó en un agitador rotator Multi Bio, marca Boeco, modelo RS-24, por 40 min. La muestra se centrifugó a 5000 RPM por 15 min en una centrífuga Centurion Scientific modelo Pro-Analytical CR4000R. Se filtró el sobrenadante con un filtro PTFE-2 de 0.22 μm hasta la formación de una alícuota del extracto para su posterior derivatizado.

Figura 5

Preparación de la muestra para derivatización



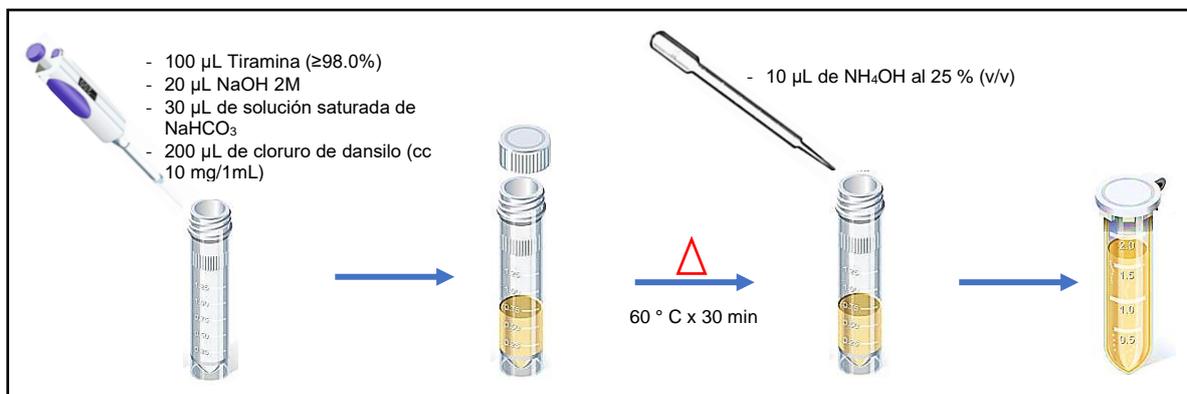
c. Derivatización

El procedimiento siguió la metodología de Ai et al., (2021); Chiacchierini et al., (2006) con algunas adaptaciones. Se utilizó 100 μL del estándar Tiramina grado analítico $\geq 98.0\%$ de pureza en un tubo eppendorf de 2 mL, se diluyó 20 μL NaOH 2M con 30 μL de solución saturada de NaHCO_3 y 200 μL de cloruro de dansilo a concentración de 10 mg/1mL, procediendo a la derivatización a una temperatura de 60

°C por 30 min. Pasado el tiempo se dejó enfriar para adicionar 10 µL de NH₄OH al 25 % (v/v) para remover le ClHS-Cl restante.

Figura 6

Proceso de derivatización



d. Preparación de la curva estándar de tiramina

Se tomó la referencia de Periche Pérez, (2018) con algunas modificaciones. Se acondicionó la solución madre de 1000 mg/L de tiramina con agua ultrapura, considerando puntos de calibración de 4, 10, 25 50 y 100 ppm de tiramina con HCl 0.1M (Anexo 6).

e. Análisis cromatográfico

Se adaptó el procedimiento de Ai et al., (2021). Para la identificación y cuantificación de la amina biógena tiramina, se diluyó el estándar de Tiramina y extractos obtenidos de la derivatización en un microvial, para el análisis se utilizó un cromatógrafo Shimadzu, Modelo DGU 20A_{3R}. Se utiliza como fase móvil en estado isocrático metanol:agua con proporción de (80:20), para el flujo se consideró 1.32 mL/min, con velocidad de inyección de 10 µL, temperatura del horno de 30 °C (CTO-20AC), la columna C18 presento 4.6x150 mm con 5 µm (CTO-20AC), el detector fotodiodo a 254 nm (modelo SPD-M30A)

Figura 7

Especificaciones para identificación y cuantificación de tiramina en HPLC

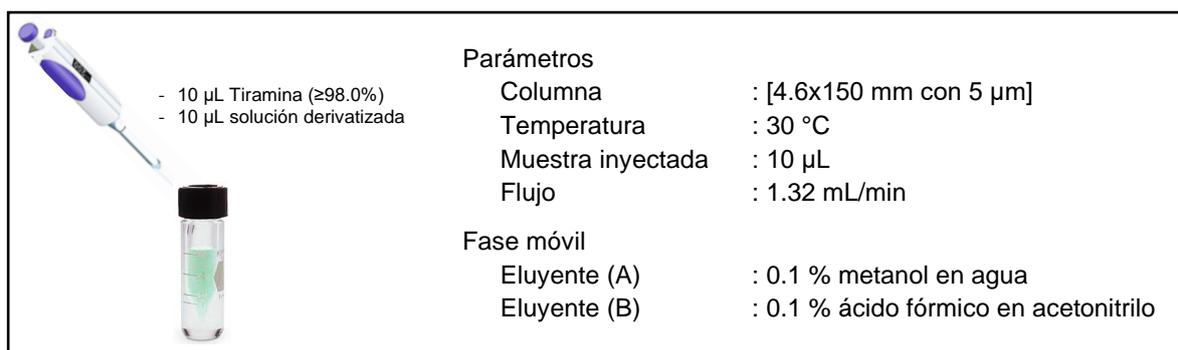


Figura 8

Cromatógrafo Shimadzu, Modelo DGU 20A3R

**3.6. Técnicas de análisis de resultados**

Para los datos del perfil sensorial se realizó un análisis descriptivo cuantitativo y un análisis de correspondencias simples (ACS) utilizando el software Minitab en su versión 19.

Para los datos de actividad antioxidante, cuantificación de fenoles totales y concentración de tiraminas se analizó previamente el cumplimiento de supuestos paramétricos de normalidad y homocedasticidad (anexos 9, 10 y 11), para los datos paramétricos (FRAP y ABTS) se realizó un Análisis de Varianza y posterior test de Tukey para encontrar entre qué muestras se dan las diferencias significativas, mientras que para los datos no paramétricos se aplicó el test de Krukai-Wallis y posterior test de comparaciones de Nemenyi para determinar entre qué muestras se dan las diferencias. Para todos los análisis se consideró un nivel de significancia del 5%, utilizando el software RProject en su versión 4.4.2

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

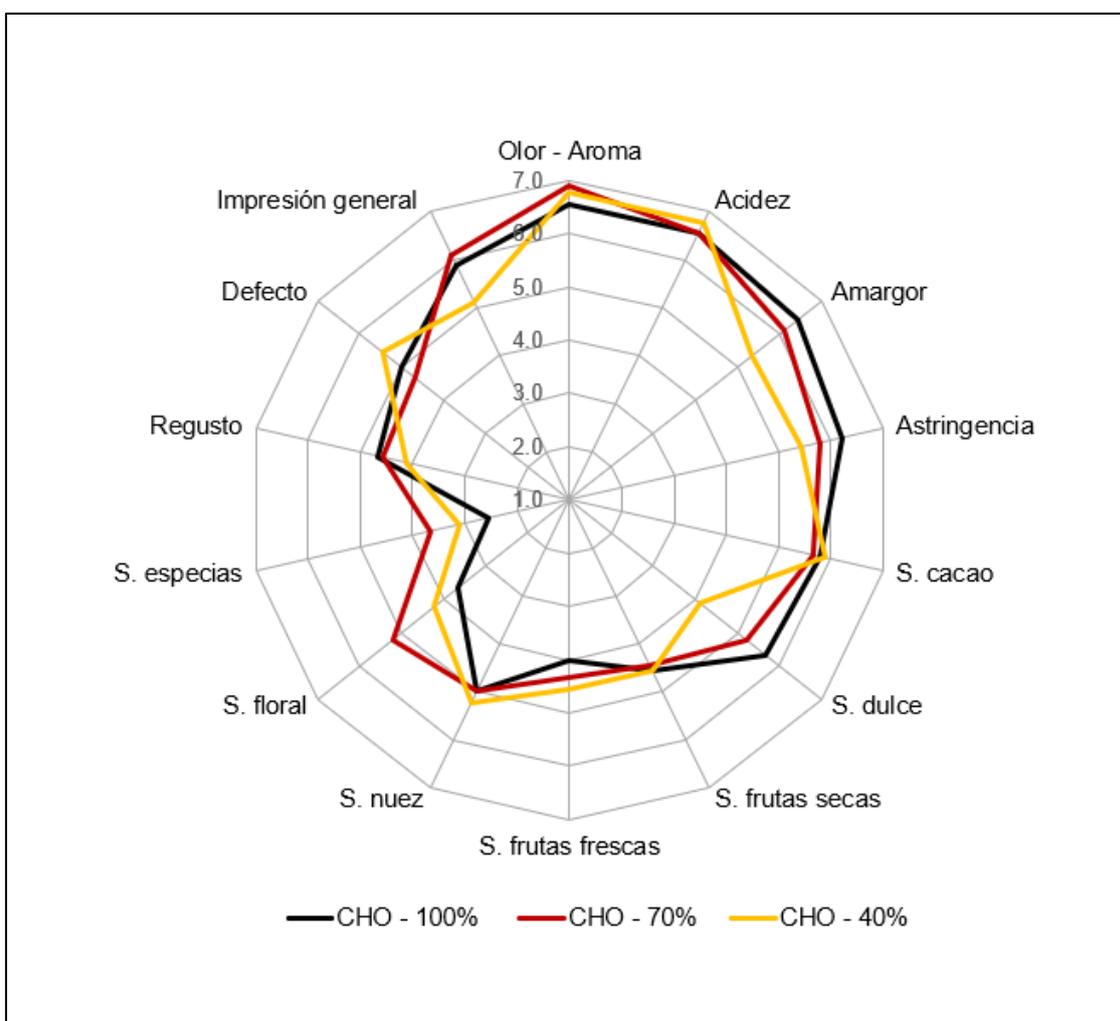
4.1. Resultados

4.1.1. Caracterización del perfil sensorial

Considerando que la evaluación al perfil sensorial se basó en la caracterización por descriptores de calidad a muestras de chocolate para taza a diferentes concentraciones de cacao. En la figura 9 se denotan los atributos de amargor, astringencia, sabor dulce e impresión general, las muestras de chocolate con 70% y 100% de cacao han tenido una mayor puntuación. También se observa que la muestra con 40% de cacao ha recibido mayor puntuación en defectos percibidos.

Figura 9

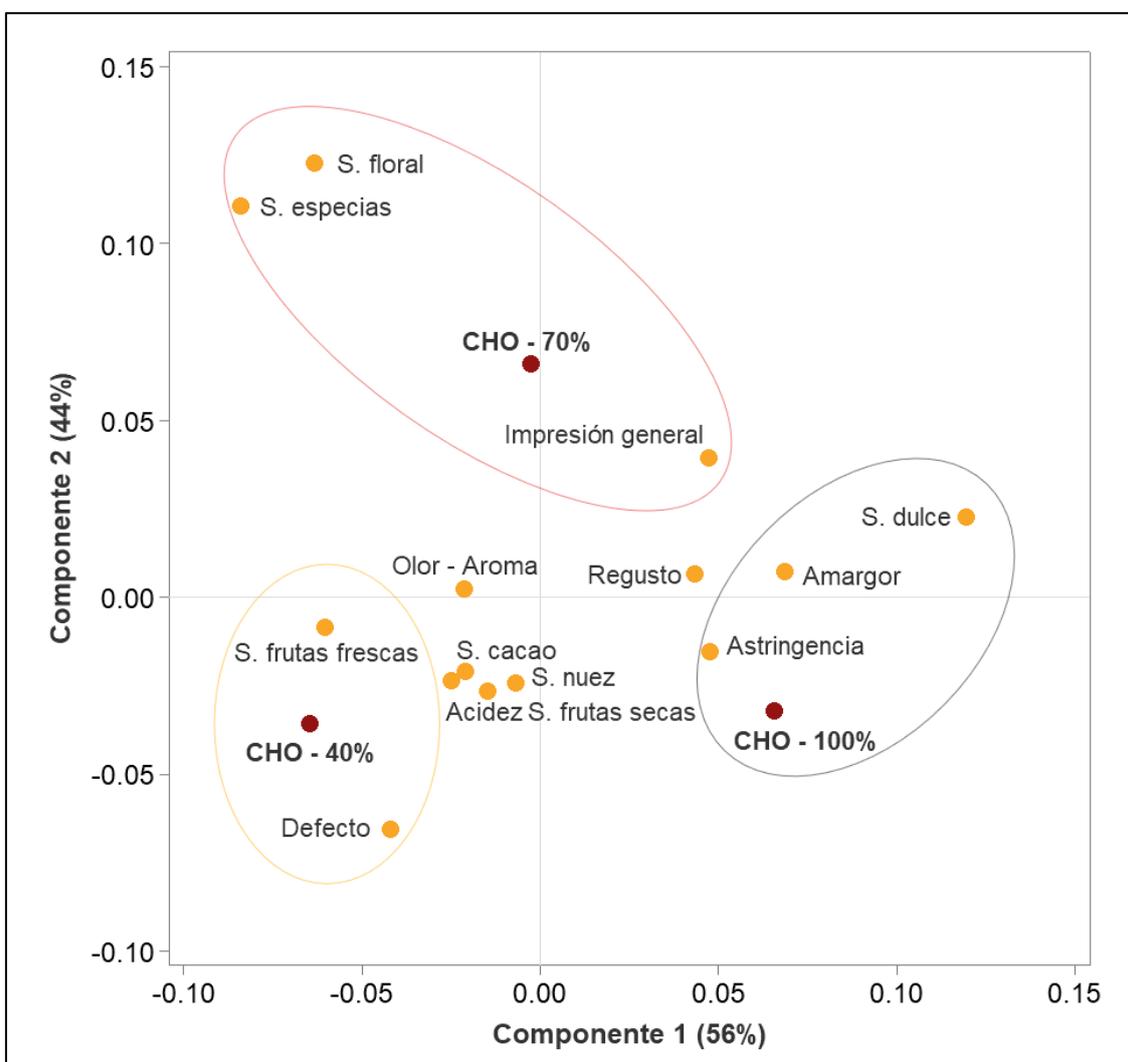
Perfil sensorial de los atributos evaluados en las muestras de chocolate para taza.



En el gráfico bidimensional de correspondencias entre atributos y muestras de chocolate, de la figura 10; se puede ver que, para la muestra con 100% de cacao los atributos que la caracterizaron fueron sabor dulce, amargor y astringencia; para 70% de cacao, los atributos con mayor intensidad percibida fueron sabor floral, sabor a especias y presentó ligeramente mayor impresión general; la muestra con 40% de cacao, se caracterizó por tener mayor percepción de defectos y un sabor a frutas frescas.

Figura 10

Biplot de correspondencias entre los atributos sensoriales y las muestras de chocolate para taza



4.1.2. Capacidad antioxidante

En la tabla 8 se tienen los valores de actividad antioxidante de las muestras de chocolate. Se puede ver que, para los tres métodos empleados, la muestra de chocolate con 100 % de cacao, presentó significativamente los mayores valores (ver análisis en el Anexo 10).

Tabla 8

Valores de actividad antioxidante de las muestras de chocolate, medida por los métodos ABTS, DPPH y FRAP

Muestra	ABTS μmolTEs/g	DPPH μmolTEs/g	FRAP μmol Fe ²⁺ /100 g
CHO - 40 %	96.46 ^c ± 2.17	64.35 ^b ± 2.27	61.89 ^c ± 2.46
CHO - 70 %	176.37 ^b ± 3.71	202.06 ^{ab} ± 3.80	126.78 ^b ± 2.46
CHO - 100 %	273.36 ^a ± 4.02	278.85 ^a ± 2.72	213.07 ^a ± 5.13

Nota. Los datos representan promedio ± desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de 5% de significancia

4.1.3. Contenido de fenoles totales

En la tabla 9 se aprecia que, la muestra de chocolate con 100 % de cacao tiene mayor concentración de fenoles totales, diferenciándose significativamente de la muestra con 40 % de chocolate (ver análisis de significancia en el Anexo 11).

Tabla 9

Cuantificación de fenoles totales de las muestras de chocolate.

Muestra	TPC mg (GAE)/100 g
CHO - 40 %	19.00 ^b ± 0.23
CHO - 70 %	19.80 ^{ab} ± 0.16
CHO - 100 %	27.32 ^a ± 0.07

Nota. Los datos representan promedio ± desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de 5% de significancia

4.1.4. Identificación y cuantificación de tiramina

De la concentración de tiramina en las muestras de chocolates se muestra en la tabla 10. La muestra con 100% de cacao tiene mayor concentración de tiramina, diferenciándose significativamente de la muestra con 40 % de cacao.

Tabla 10

Cuantificación de tiramina en las muestras de chocolate.

Muestra	Tiempo de retención	Área	Concentración (mg/L)
CHO - 40 %	5.82 ± 0.02	9,980 ± 862	0.37 ^b ± 0.03
CHO - 70 %	6.16 ± 0.05	184,366 ± 5,323	6.83 ^{ab} ± 0.20
CHO - 100 %	6.12 ± 0.00	226,179 ± 15,870	8.38 ^a ± 0.59

Nota. Los datos representan promedio ± desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de 5% de significancia

En la figura 11, 12 y 13 se aprecia el perfil cromatográfico del chocolate para taza procesado a concentraciones de 40, 70 y 100 % de cacao denotando mayor concentración de tiramina en el perfil cromatográfico al 100 % de cacao y menor en la muestra al 40 % de cacao.

Figura 11

Perfil cromatográfico de presencia de tiramina en muestra de chocolate para taza al 40 % de concentración de cacao.

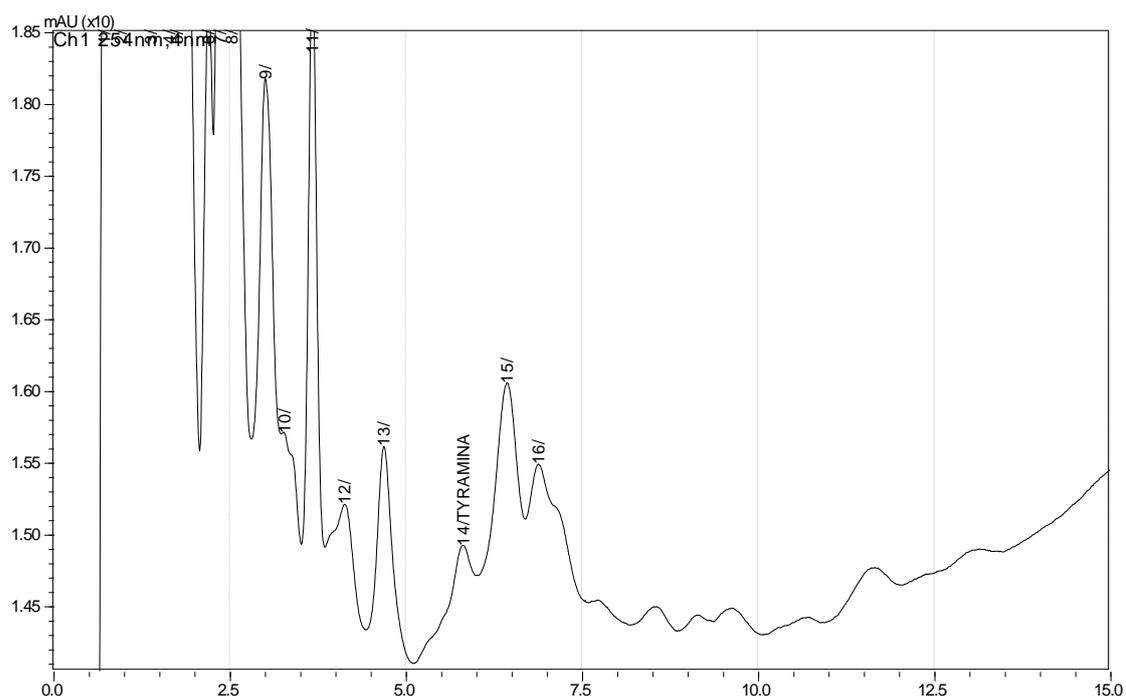
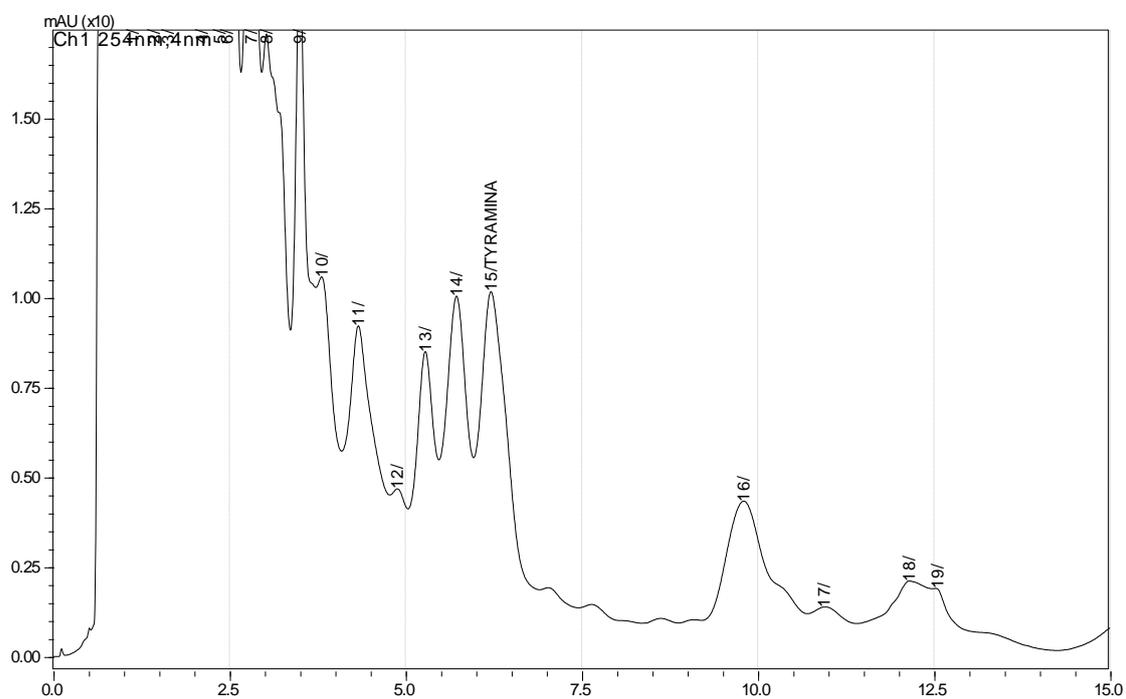
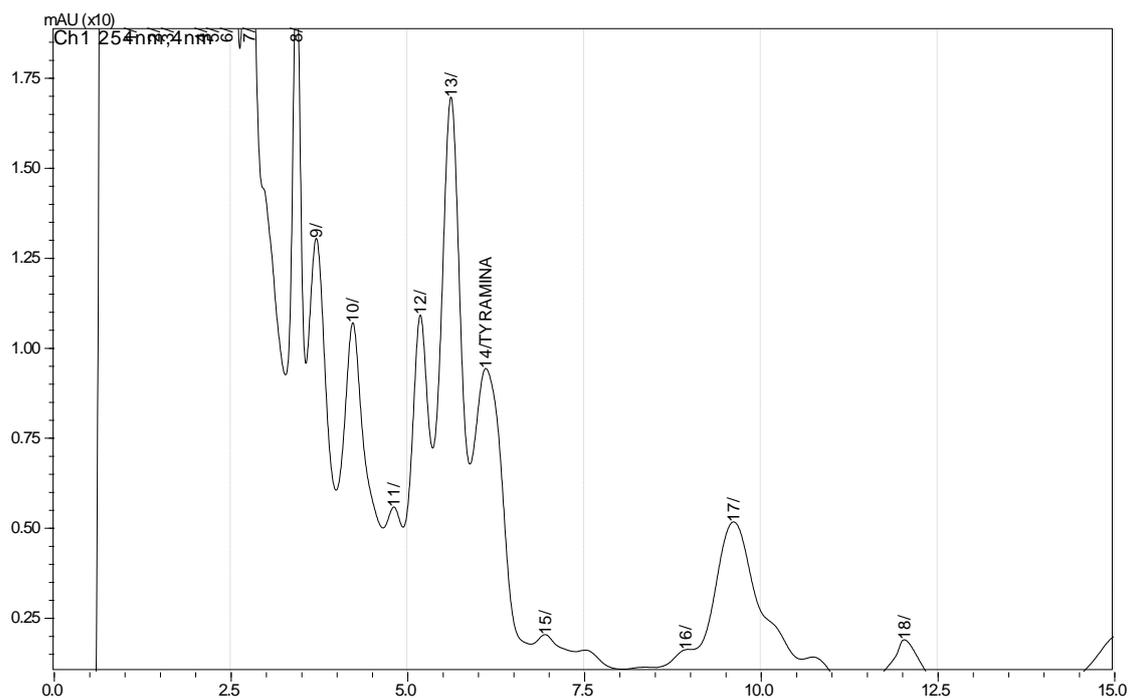


Figura 12

Perfil cromatográfico de presencia de tiramina en muestra de chocolate para taza al 70 % de concentración de cacao.

**Figura 13**

Perfil cromatográfico de presencia de tiramina en muestra de chocolate para taza al 100 % de concentración de cacao.



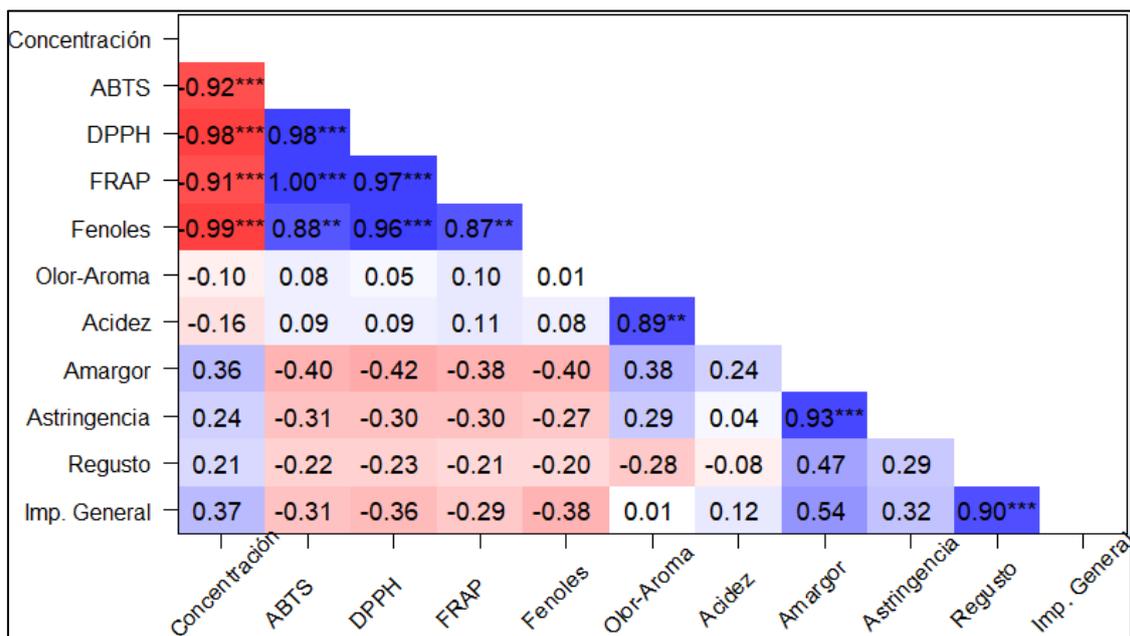
4.1.5. Correlación entre perfil sensorial, actividad antioxidante, fenoles totales y cuantificación tiramina de las muestras de chocolate

En la figura 14 se tiene la matriz de correlaciones de los indicadores evaluados en las muestras de chocolate. Se aprecia una alta correlación positiva entre los valores de los tres métodos con los que se evaluó la actividad antioxidante y con la concentración de fenoles totales. En contraparte, la concentración de tiraminas está correlacionada negativamente con la actividad antioxidante (con los tres métodos) y con la concentración de fenoles totales.

Los atributos sensoriales no presentan correlaciones significativas con la actividad antioxidante ni con la concentración de tiraminas; pero si se observa que entre los atributos de acidez y olor – aroma existe alta correlación positiva, lo mismo para astringencia con amargor y para impresión general con regusto.

Figura 14

Matriz de correlación entre los atributos sensoriales, actividad antioxidante (tres métodos), concentración de fenoles totales y concentración de tiraminas.



Nota. Los datos corresponden al coeficiente de correlación de Pearson. *Indica que el coeficiente de correlación es significativo. Color azul representa correlación positiva y color rojo indica correlación negativa.

4.2. Discusión

Se ha evaluado el chocolate para taza en diversas investigaciones, con respecto al perfil sensorial Rodríguez-Silva et al., (2023) en Colombia, muestra caracteres sensoriales de 24 genotipos especiales de cacao en Colombia encontraron que los atributos sensoriales del chocolate como el sabor y la textura están directamente influenciados por el genotipo del cacao y las circunstancias de cultivo lo que resalta la importancia de seleccionar variedades específicas para obtener perfiles sensoriales deseados, asimismo en la investigación realizada por Garcia-Yu, (2021) en Salamanca - España, analizaron las propiedades sensoriales en la valoración de la calidad del chocolate y el efecto del consumo de chocolate con alto porcentaje de cacao en la salud. Sin embargo, Masis y Orlich, (1982) en Costa Rica, de la cuantificación de tiramina resaltaron la necesidad de considerar tanto los compuestos bioactivos como las propiedades sensoriales en la valoración de la calidad del chocolate. Los resultados del informe indican que las muestras de chocolate con mayores concentraciones de cacao (70 % y 100 %) obtuvieron puntuaciones más altas en atributos sensoriales como amargor, astringencia y sabor dulce, mientras que la muestra con 40 % de cacao presentó una mayor percepción de defectos y un sabor a frutas frescas.

Con respecto a la determinación de la capacidad antioxidante (método ABTS, DPPH, FRAP) y contenido de fenoles totales Chacón Ortiz et al., (2021) en Perú, del cacao crudo incorporado en la etapa final del refinado en chocolates oscuros al 70 % presentó aumento significativo de la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales del chocolate del 10 % sobre el rango normal, asimismo Muñoz et al., (2022) en Perú, el contenido de antioxidantes se ven afectados por el tipo de azúcar empleado en la formulación de chocolate oscuro elaborado con cacao criollo nativo al 70%. Además, Alzate et al., (2017) en Perú, indican que las temperaturas más bajas ayudan a preservar los polifenoles y, por ende, la capacidad antioxidante del producto final. Los resultados del informe muestran una marcada relación entre el porcentaje de cacao en el chocolate y su actividad antioxidante obtenida mediante los métodos ABTS, DPPH y FRAP. Se observa que a mayor concentración de cacao la valoración de actividad antioxidante aumenta significativamente; para el caso el chocolate con 100 % de cacao presenta los valores más altos en los tres métodos (ABTS: 273.36 $\mu\text{molTE/g}$, DPPH: 278.85 $\mu\text{molTE/g}$, FRAP: 213.07 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/100\text{ g}$), mientras que el chocolate con 40 % de cacao muestra los valores más bajos. La variabilidad en los datos entre los métodos sugiere que cada uno identifica un mecanismo de acción antioxidante, lo que resalta la importancia de utilizar múltiples

pruebas para evaluar la actividad antioxidante de un alimento. Además, las diferencias significativas entre las muestras indican que la concentración de cacao es un factor determinante en la capacidad antioxidante del chocolate. Similar resultado se observó para el contenido de fenoles totales, donde la muestra de chocolate con 100% de cacao presentó una concentración de 27.32 mg (GAE)/100g.

Respecto a la identificación y cuantificación de tiramina en muestras de chocolate para taza Mejía-Reyes et al., (2018) en México, el proceso fermentativo del grano de cacao influye en la acumulación de compuestos como la tiramina, además Masis y Orlich, (1982) en Costa Rica identificaron la presencia de tiramina en diversos alimentos destacando que su metabolismo puede verse alterado por factores como la administración de inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO). Asimismo Dala-Paula et al., (2023) en Brasil, hallaron Tiramina en muestras de chocolate negro en valor de 0.7 pg/g, sucedáneos de chocolate de (0.3 pg/g), cacao en polvo azucarado fue 0.6 pg/g. Los resultados de la investigación indican una correlación positiva entre el contenido de cacao en el chocolate y la concentración de tiramina. La muestra con 100 % de cacao presentó la mayor concentración de tiramina (8.38 mg/L), seguida por la de 70 % (6.83 mg/L), mientras que la de 40 % mostró una cantidad significativamente menor (0.37 mg/L). Estos valores sugieren que la cantidad de tiramina en el chocolate está directamente influenciada por el porcentaje de cacao en su composición.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

La caracterizó el perfil sensorial de las tres concentraciones de cacao en chocolate a través de una ficha de evaluación sensorial, revelando que los chocolates con mayor contenido de cacao (70 % y 100 %) fueron mejor valorados en atributos de amargor, astringencia y sabor dulce, con respecto a la muestra de 40 % de cacao presentó una mayor percepción de defectos sensoriales.

Se observó una relación positiva y proporcional entre la concentración de cacao y la actividad antioxidante mediante los ensayos ABTS, DPPH y FRAP. La muestra con 100 % de cacao presentó los valores más altos en estos indicadores variando entre 213.07 y 278.85 $\mu\text{mol Trolox/g}$ muestra. Asimismo, la concentración de fenoles totales siguió el mismo patrón, denotando mayor presencia en el chocolate al 100 % de cacao (27.32 mg ácido gálico/100 g muestra) en relación a la muestra al 40 % de cacao (19.00 mg ácido gálico/100 g muestra)

Se identificó y cuantificó la presencia de tiramina en el chocolate para taza, estando directamente relacionada con el contenido de cacao. La muestra con 100 % de cacao presentó la mayor concentración de tiramina (8.38 mg/L), mientras que la de 40 % mostró la menor cantidad (0.37 mg/L).

Se encontró una correlación positiva entre la capacidad antioxidante y la concentración de fenoles totales. Por otro lado, la concentración de tiramina mostró una correlación negativa con la actividad antioxidante y el contenido de fenoles.

5.2. Recomendaciones

Consideraciones para la industria y salud pública

La industria alimentaria debe considerar que la tiramina puede representar un riesgo para ciertos consumidores, especialmente aquellos que toman inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAO), se recomienda que los chocolates con alto contenido de cacao incluyan advertencias sobre su consumo. Asimismo, la industria del chocolate podría explorar estrategias de procesamiento para reducir la acumulación de tiramina sin afectar la calidad sensorial ni los beneficios antioxidantes del producto.

A los investigadores orientados al estudio del chocolate, se debe enfocar identificar el impacto de diferentes condiciones de fermentación y procesamiento del cacao en la acumulación de tiramina. Además, sería relevante analizar la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos y su efecto en la salud del consumidor, especialmente en chocolates con alto porcentaje de cacao.

VI. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Ai, Y., Sun, Y. N., Liu, L., Yao, F. Y., Zhang, Y., Guo, F. Y., Zhao, W. J., Liu, J. L., y Zhang, N. (2021). Determination of Biogenic Amines in Different Parts of *Lycium barbarum* L. by HPLC with Precolumn Dansylation. *Molecules*, 26(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/molecules26041046>
- Aldave Palacios, G. J. (2016). Efecto de la temperatura y tiempo de tostado en los caracteres sensoriales y en las propiedades químicas de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) procedente de Uchiza, San Martín – Perú para la obtención de NIBS. *Repositorio de Tesis - UNMSM*. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/5009>
- Al-Shamsi, K. A., Mudgil, P., Hassan, H. M., y Maqsood, S. (2018). Camel milk protein hydrolysates with improved technofunctional properties and enhanced antioxidant potential in in vitro and in food model systems. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 47-60. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13194>
- Alzate, L. K. A., Díaz, D. P. M., Otálvaro, E. V. A., Gallego, W. G. V., y Vélez, L. P. (2017). Efecto de la temperatura del conchado sobre los polifenoles en un chocolate semi-amargo. *Alimentos Hoy*, 25(41), 31-50.
- Amenu, D., y Bacha, K. (2024). Antagonistic Effects of Lactic Acid Bacteria Isolated from Ethiopian Traditional Fermented Foods and Beverages Against Foodborne Pathogens. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s12602-024-10231-5>
- Aprotosoai, A. C., Luca, S. V., y Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products-An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 73-91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>
- Armuelles, K., y Peñalba, V. (2023). Gestión de la cadena de suministro del cacao: Estado del Arte. *Investigación y Pensamiento Crítico*, 11(3), 12-20.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bressan Martin, G. S. (2020). *Interacción Fármaco—Nutriente*.
<https://repositorio.umaza.edu.ar/handle/00261/1828>
- Chacón Ortiz, C. Y., Mori Culqui, P. L., Chavez Quintana, S. G., Chacón Ortiz, C. Y., Mori Culqui, P. L., y Chavez Quintana, S. G. (2021). Antioxidantes y polifenoles totales de chocolate negro con incorporación de cacao (*Theobroma cacao L.*) crudo. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 23(4), 266-273. <https://doi.org/10.18271/ria.2021.331>
- Chakraborty, S., Uppaluri, R., y Das, C. (2020). Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) process for the recovery of bioactive compounds from bitter gourd using response surface methodology (RSM). *Food and Bioprocess Processing*, 120, 114-122. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.01.003>
- Chiacchierini, E., Restuccia, D., y Vinci, G. (2006). Evaluation of two different extraction methods for chromatographic determination of bioactive amines in tomato products. *Talanta*, 69(3), 548-555.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.10.027>
- Codex Alimentarius. (2016). Norma para el chocolate y los productos del chocolate—CODEX STAN 87-1981. *ONU, OMS*, 8.
- Dai, Y., Chen, Y., Lin, X., y Zhang, S. (2024). Recent Applications and Prospects of Enzymes in Quality and Safety Control of Fermented Foods. *Foods*, 13(23), Article 23. <https://doi.org/10.3390/foods13233804>
- Dala-Paula, B. M., Custódio, F. B., y Gloria, M. B. (2023). Health concerns associated with biogenic amines in food and interaction with amine oxidase drugs. *Current Opinion in Food Science*, 54. Scopus.
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101090>

- Dala-Paula, B. M., Deus, V. L., Tavano, O. L., y Glória, M. B. A. (2023). *BIOACTIVE AMINES IN 70% COCOA DARK CHOCOLATE: WHAT YOU EAT AND WHAT YOU GET*.
- de Oliveira, V. S., Augusta, I. M., Braz, M. V. da C., Riger, C. J., Prudêncio, E. R., Sawaya, A. C. H. F., Sampaio, G. R., Torres, E. A. F. da S., y Saldanha, T. (2020). Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and *in vitro* and *in vivo* antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 315, 126274.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126274>
- de Souza, V. R., Pereira, P. A. P., da Silva, T. L. T., de Oliveira Lima, L. C., Pio, R., y Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, 156, 362-368.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.125>
- Deus, V. L., Bispo, E. S., Franca, A. S., y Gloria, M. B. A. (2021). Understanding amino acids and bioactive amines changes during on-farm cocoa fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 97. Scopus.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103776>
- Deus, V. L., Resende, L. M., Bispo, E. S., Franca, A. S., y Gloria, M. B. A. (2021). FTIR and PLS-regression in the evaluation of bioactive amines, total phenolic compounds and antioxidant potential of dark chocolates. *Food Chemistry*, 357. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129754>
- do Carmo Brito, B. de N., Campos Chisté, R., da Silva Pena, R., Abreu Gloria, M. B., y Santos Lopes, A. (2017). Bioactive amines and phenolic compounds in cocoa beans are affected by fermentation. *Food Chemistry*, 228, 484-490.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.004>
- Dorantes-Salazar, E. L., Báez-González, J. G., Gastelúm-Martínez, É., Morales-Landa, J. L., y García-Marquez, E. (2023). Determinación de actividad

- antioxidante en alimentos funcionales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), Article 1.
<https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.84>
- Dostert, N., Roque, J., Cano, A., La Torre, M. I., Weigend, M., y Luebert, F. (2012).
Hoja botánica: Cacao. Theobroma cacao L.
<http://repositoriodigital.minam.gob.pe/xmlui/handle/123456789/185>
- Erazo, C. Y. S. (2025). *Influencia del procesado sobre el perfil volátil y su impacto en la calidad de variedades comerciales de cacao (Theobroma cacao L.) procedentes de Ecuador.* <http://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/32253>
- Erazo Solórzano, C. Y., Bravo Franco, K. J., Tuárez García, D. A., Fernández Escobar, Á. O., Torres Navarrete, Y., y Vera, J. (2021). Efecto de la fermentación de cacao (*theobroma cacao L.*), variedad nacional y trinitario, en cajas de maderas no convencionales sobre la calidad física y sensorial del licor de cacao. *Revista de Investigación TALENTOS*, 8(2), 42-55.
- Espín, S., y Samaniego, I. (2016). *Manual para el análisis de parámetros químicos asociados a la calidad del cacao.* Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Departamento de Nutrición y Calidad, 2016.
<http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4072>
- Famakinwa, A., Ngcoko, A., Nicholas, E., Olubi, O., Oguntibeju, O. O., Van Wyk, J., y Obilana, A. (2024). Chemical and functional properties of nutrient-dense beverages developed from underutilised crops. *Plant Science Today*, 11(1), 45-53. Scopus. <https://doi.org/10.14719/pst.2606>
- Fernández-Romero, E., Chavez-Quintana, S. G., Siche, R., Castro-Alayo, E. M., y Cardenas-Toro, F. P. (2020). The Kinetics of Total Phenolic Content and Monomeric Flavan-3-ols during the Roasting Process of Criollo Cocoa. *Antioxidants*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/antiox9020146>

- Fuzikawa, C. S., Hara, C., Gloria, M. B. A., y Rocha, F. L. (1999). Monoamine oxidase inhibitors and diet update and practical recommendations for clinical use. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, 48(10), 453-460. Scopus.
- Gamez-Villazana, J. (2022). *AVANCES EN LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN ALIMENTOS*. 19, 7-17.
- Garcia-Yu, I. A. (2021). *Efecto del chocolate con alto porcentaje de cacao sobre la salud en mujeres posmenopáusicas. Ensayo clínico aleatorizado*.
<https://gredos.usal.es/handle/10366/149394>
- Gómez-Molina, R., Villanueva, S., y Henríquez, M. (2019). Tendencia mundial en la elaboración de productos derivados del cacao. *Revista INGENIERÍA UC*, 26(2), 213-222.
- Grijalva-Verdugo, C., Hernández-Martínez, M., Meza-Márquez, O. G., Gallardo-Velázquez, T., y Osorio-Revilla, G. (2018). FT-MIR spectroscopy and multivariate analysis for determination of bioactive compounds and antioxidant capacity in Cabernet Sauvignon wines. *CYTA - Journal of Food*, 16(1), 561-569. <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1428224>
- Izcar Sierra, S. (2023). *Análisis de compuestos bioactivos y tóxicos naturales en alimentos de origen vegetal. Avances en la aplicación de técnicas miniaturizadas en preparación de muestra*. <https://hdl.handle.net/10115/22309>
- Jalon, M., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. C., y Marine-Font, A. (1983). Tyramine in Cocoa and Derivatives. *Journal of Food Science*, 48(2), 545-547. Scopus. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb10786.x>
- khan, M. zahid, y Nawaz, W. (2016). The emerging roles of human trace amines and human trace amine-associated receptors (hTAARs) in central nervous system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 439-449.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.07.002>
- Lan, Q., Pei, H., Deng, L., Zhang, Y., Yang, L., He, W., Ma, Y., Li, J., y Yang, Y. (2024). Research Progress of Tyramine Formation and Control Methods in

- Fermented Meat Products. *Science and Technology of Food Industry*, 45(6), 380-388. Scopus. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023040241>
- Lemarcq, V., Tuenter, E., Bondarenko, A., Van de Walle, D., De Vuyst, L., Pieters, L., Sioriki, E., y Dewettinck, K. (2020). Roasting-induced changes in cocoa beans with respect to the mood pyramid. *Food Chemistry*, 332. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127467>
- Leonard, W., Zhang ,Pangzhen, Ying ,Danyang, y and Fang, Z. (2022). Tyramine-derived hydroxycinnamic acid amides in plant foods: Sources, synthesis, health effects and potential applications in food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(6), 1608-1625. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1845603>
- Llerena, W., Samaniego, I., Vallejo, C., Arreaga, A., Zhunio, B., Coronel, Z., Quiroz, J., Angós, I., y Carrillo, W. (2023). Profile of Bioactive Components of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) By-Products from Ecuador and Evaluation of Their Antioxidant Activity. *Foods*, 12(13), 2583. <https://doi.org/10.3390/foods12132583>
- Londoño Londoño, J. A. (2012). *Antioxidantes: Importancia biológica y métodos para medir su actividad*. Corporación Universitaria Lasallista. <http://repository.unilasallista.edu.co/dspace//handle/10567/133>
- Masis, R., y Orlich, J. (1982). *Análisis de tiramina en algunos alimentos de lo dieto costarricense: Informe preliminar*.
- Matissek, R. (2023). Biogene Amine. En R. Matissek y A. Hahn (Eds.), *Lebensmittelchemie* (pp. 603-610). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-66925-9_20
- Medina-Mendoza, M., Castro-Alayo, E. M., Balcazar-Zumaeta, C. R., Silva-Zuta, M. Z., Maicelo-Quintana, J. L., y Cayo-Colca, I. S. (2023). Conching process time, sauco by-product concentration, and sachá inchi oil levels identification

- for the enrichment of dark chocolate. *Heliyon*, 9(9), e19886.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19886>
- Mejía-Reyes, J. D., Coronel-Niño, R., Gálvez-López, D., Rosas-Quijano, R., y Vázquez-Ovando, A. (2018). Efecto de la fermentación y del tostado sobre el contenido de aminas biogénicas en semillas de cacao. *Journal of Negative and No Positive Results*, 3(12), Article 12.
<https://doi.org/10.19230/jonnpr.2778>
- Melo, T. S., Pires, T. C., Engelmann, J. V. P., Monteiro, A. L. O., Maciel, L. F., y Bispo, E. da S. (2021). Evaluation of the content of bioactive compounds in cocoa beans during the fermentation process. *Journal of Food Science and Technology*, 58(5), 1947-1957. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04706-w>
- Moreno Fuentes, Á. (2014). Un recurso alimentario de los grupos originarios y mestizos de México: Los hongos silvestres. *Anales de Antropología*, 48(1), 241-272. [https://doi.org/10.1016/S0185-1225\(14\)70496-5](https://doi.org/10.1016/S0185-1225(14)70496-5)
- Motamayor, J. C., Risterucci, A. M., Heath, M., y Lanaud, C. (2003). Cacao domestication II: Progenitor germplasm of the Trinitario cacao cultivar. *Heredity*, 91(3), 322-330. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800298>
- Muñoz, R. del P. F., Culqui, P. L. M., y Quintana, S. G. C. (2022). Efecto del tipo de azúcar en la aceptación y capacidad antioxidante de los chocolates oscuros. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 5(1), Article 1.
<https://doi.org/10.25127/ucni.v4i3.810>
- Murcia-Artunduaga, K., Gasca-Torres, L., y Castañeda, M. del R. (2022). Evaluación físico-sensorial de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.), región sur del Huila (Colombia). *Informador Técnico*, 86(2), Article 2.
<https://doi.org/10.23850/22565035.4358>
- Nardini, M., y Garaguso, I. (2020). Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers. *Food Chemistry*, 305, 125437.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125437>

- Nyayiru Kannaian, U. P., Edwin, J. B., Rajagopal, V., Nannu Shankar, S., y Srinivasan, B. (2020). Phytochemical composition and antioxidant activity of coconut cotyledon. *Heliyon*, 6(2). Scopus.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03411>
- Oliveras Sevilla, J. M. O. (2007). *La elaboración del chocolate, una técnica dulce y ecológica*.
- Oracz, J., y Nebesny, E. (2014a). Influence of roasting conditions on the biogenic amine content in cocoa beans of different Theobroma cacao cultivars. *Food Research International*, 55, 1-10. Scopus.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.032>
- Oracz, J., y Nebesny, E. (2014b). Influence of roasting conditions on the biogenic amine content in cocoa beans of different Theobroma cacao cultivars. *Food Research International*, 55, 1-10.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.032>
- Ortega-Sanchez, B. A., Costa-Celestino, S. M., de Abreu Gloria, M. B., Costa-Celestino, I., Ordóñez-Lozada, M. I., Dias-Araújo Júnior, S., Rodrigues de Alencar, E., y de Lacerda de Oliveira, L. (2020). Pasteurization of passion fruit *Passiflora setacea* pulp to optimize bioactive compounds retention. *Food Chemistry: X*, 6, 100084. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2020.100084>
- Palomino Vasco, M. (2021). *Desarrollo de métodos para la determinación de componentes minoritarios en bebidas alcohólicas fermentadas, mediante diferentes técnicas analíticas y herramientas quimiométricas* [doctoral Thesis].
<https://dehesa.unex.es:8443/handle/10662/12262>
- Paparella, A., Schirone, M., y López, C. C. (2025). The Health Impact of Cocoa from Cultivation to the Formation of Biogenic Amines: An Updated Review. *Foods*, 14(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/foods14020255>
- Periche Pérez, J. (2018). Contenido de aminos biógenas (histamina y tiramina) y su relación con características fisicoquímicas en muestras de chicha de jora

- elaboradas en la provincia de Abancay, Apurímac. *Industrial Data*, 21(2), 35-46. <https://doi.org/10.15381/idata.v21i2.15601>
- Pico Hernández, S. M., Jaimes Estévez, J., López Giraldo, L. J., Murillo Méndez, C. J., Pico Hernández, S. M., Jaimes Estévez, J., López Giraldo, L. J., y Murillo Méndez, C. J. (2019). Supercritical extraction of bioactive compounds from Cocoa husk: Study of the main parameters. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 91, 95-105. <https://doi.org/10.17533/udea.redin.n91a09>
- Pulido, R., Bravo, L., y Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols As Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3396-3402. <https://doi.org/10.1021/jf9913458>
- Qasim, M., Abideen, Z., Adnan, M. Y., Gulzar, S., Gul, B., Rasheed, M., y Khan, M. A. (2017). Antioxidant properties, phenolic composition, bioactive compounds and nutritive value of medicinal halophytes commonly used as herbal teas. *South African Journal of Botany*, 110, 240-250. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.10.005>
- Quesada-Arguedas, P., Hernández-Aguirre, C., Vargas-Martínez, A., Mencía-Guevara, A., Quesada-Arguedas, P., Hernández-Aguirre, C., Vargas-Martínez, A., y Mencía-Guevara, A. (2024). Análisis de calidad de cacao utilizando espectroscopía de infrarrojo cercano portable: Desafíos para diferenciación geográfica. *Agronomía Costarricense*, 48(2), 31-43. <https://doi.org/10.15517/rac.v48i2.62465>
- Quiroz-Reyes, C. N., y Fogliano, V. (2018). Design cocoa processing towards healthy cocoa products: The role of phenolics and melanoidins. *Journal of Functional Foods*, 45, 480-490. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.031>
- Ramos-Escudero, F., Casimiro-Gonzales, S., Fernández-Prior, Á., Cancino Chávez, K., Gómez-Mendoza, J., Fuente-Carmelino, L. de la, y Muñoz, A. M. (2021).

- Colour, fatty acids, bioactive compounds, and total antioxidant capacity in commercial cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *LWT*, 147, 111629.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111629>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237.
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Río, B. del, Redruello, B., Fernández, M., Ladero, V., y Álvarez, M. A. (2020). Aminas biógenas en alimentos: Métodos moleculares para la detección e identificación de bacterias productoras. *Arbor*, 196(795), Article 795.
<https://doi.org/10.3989/arbor.2020.795n1009>
- Rivero, y Sanz, M. I. (2017). *Aminas biogénicas: Estudio de nuevos colorantes para su determinación enzimática—Repositorio Institucional de Documentos*.
<https://zaguan.unizar.es/record/65163>
- Robles-Valdivia, M. T., Sánchez-Otero, M. G., Robles-Valdivia, M. T., y Sánchez-Otero, M. G. (2022). Familia Malvaceae: Especies fundamentales en la industria agroalimentaria con potencial comercial, nutrimental y nutracéutico. *Terra Latinoamericana*, 40. <https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.943>
- Rodríguez-Silva, L. G., Quintana-Fuentes, L. F., Coronado-Silva, R. A., García-Jerez, A., Báez-Daza, E. Y., Agudelo-Castañeda, G. A., Rodríguez-Silva, L. G., Quintana-Fuentes, L. F., Coronado-Silva, R. A., García-Jerez, A., Báez-Daza, E. Y., y Agudelo-Castañeda, G. A. (2023). Caracterización física y sensorial de 24 genotipos especiales de cacao *Theobroma cacao*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 26(1).
<https://doi.org/10.31910/rudca.v26.n1.2023.2410>
- Rodríguez-Velázquez, N. D., Chávez-Ramírez, B., Gómez de la Cruz, I., Vásquez-Murrieta, M.-S., y Estrada de los Santos, P. (2022). *El cultivo del cacao, sus*

características y su asociación con microorganismos durante la fermentación.

<https://hdl.handle.net/20.500.12371/15599>

Salman, B. I., Hassan, Y. F., Eltoukhi, W. E., y Saraya, R. E. (2022). Quantification of tyramine in different types of food using novel green synthesis of ficus carica quantum dots as fluorescent probe. *Luminescence*, 37(8), 1259-1266.

Scopus. <https://doi.org/10.1002/bio.4291>

Santos-Leite Neta, M. T., Silva de Jesus, M., Alves da Silva, J. L., Santos-Araujo, H. C., Dutra-Sandes, R. D., Shanmugam, S., y Narain, N. (2019). Effect of spray drying on bioactive and volatile compounds in soursop (*Annona muricata*) fruit pulp. *Food Research International*, 124, 70-77.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.039>

Silva, G. S., Dala-Paula, B. M., Bispo, E. S., y Gloria, M. B. A. (2023). Bioaccessibility of bioactive amines in dark chocolates made with different proportions of under-fermented and fermented cocoa beans. *Food Chemistry*, 404(Pt B), 134725.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134725>

Singleton, V. L., Orthofer, R., y Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. En *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178).

Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Subroto, E., Andoyo, R., Indiarso, R., Lembong, E., y Rahmani, F. (2022).

Physicochemical properties, sensory acceptability, and antioxidant activity of chocolate bar fortified by solid lipid nanoparticles of gallic acid. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 1907-1919. Scopus.

<https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2115066>

Summa, C., Raposo, F. C., McCourt, J., Scalzo, R. L., Wagner, K.-H., Elmadfa, I., y Anklam, E. (2006). Effect of roasting on the radical scavenging activity of cocoa beans. *European Food Research and Technology*, 222(3), 368-375.

<https://doi.org/10.1007/s00217-005-0005-2>

- Tuenter, E., Delbaere, C., De Winne, A., Bijttebier, S., Custers, D., Foubert, K., Van Durme, J., Messens, K., Dewettinck, K., y Pieters, L. (2020). Non-volatile and volatile composition of West African bulk and Ecuadorian fine-flavor cocoa liquor and chocolate. *Food Research International*, 130. Scopus.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108943>
- Tuenter, E., Sakavitsi, M. E., Rivera-Mondragón, A., Hermans, N., Foubert, K., Halabalaki, M., y Pieters, L. (2021). Ruby chocolate: A study of its phytochemical composition and quantitative comparison with dark, milk and white chocolate. *Food Chemistry*, 343. Scopus.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128446>
- Valentin, L., Barroso, L. P., Barbosa, R. M., de Paulo, G. A., y Castro, I. A. (2020). Chemical typicality of South American red wines classified according to their volatile and phenolic compounds using multivariate analysis. *Food Chemistry*, 302, 125340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125340>
- Viganó, J., Assis, B. F. de P., Náthia-Neves, G., dos Santos, P., Meireles, M. A. A., Veggi, P. C., y Martínez, J. (2020). Extraction of bioactive compounds from defatted passion fruit bagasse (*Passiflora edulis* sp.) applying pressurized liquids assisted by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 104999.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.104999>
- Yao, Y., Gao, X., Guo, M., Liu, J., y Kang, M. (2024). The key tyrosine decarboxylase gene and its negative transcription factor for GX-50 biosynthesis in Sichuan Pepper (*Zanthoxylum armatum*). *Industrial Crops and Products*, 210. Scopus.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118128>
- Zhang, H., Yin, C., Xu, L., Prinyawiwatkul, W., y Xu, Z. (2019). An improved determination method for tyramine in foods using ultra-high performance liquid chromatography with benzylamine as internal standard. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(6), 2101-2108. Scopus.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.14115>

VII. ANEXOS

Anexo 1

Materia prima utilizada en la investigación

Figura 15

Constancia de variedad de cacao forastero

 <p>APAYAB ASOCIACIÓN DE PRODUCTORES AGROEMPRESARIOS DEL VALLE DE BELLAVISTA</p>	<p>ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROEMPRESARIOS DEL VALLE DE BELLAVISTA</p>
<p>CONSTANCIA</p>	
<p>El Coordinador del PNT “Mejoramiento de los Niveles de Producción, Productividad y Calidad del Cultivo de Cacao Nativo de la Asociación de Productores Agroempresarios del Valle de Bellavista” y el Presidente de la indicada Organización, hacen CONSTAR, que:</p>	
<p>La muestra de cacao adquirida por la interesada, M. Sc. Ing. Eliana Milagros Cabrejos Barrios, es de cacao nativo, tipo Amazónico o Forastero; se le expide la presente, a solicitud de la Interesada, para los fines que estime por conveniente.</p>	
<p>Bellavista, 05 de junio del 2023.</p>	
 <p>Ing. Alcides Plazo Ventura COORDINADOR PNT CIP 33497</p>	 <p>ASOCIACION DE PRODUCTORES AGROEMPRESARIOS DEL VALLE DE BELLAVISTA WILKER AQUINO HUAMANTLA DELGADO DNI: 27681820 PRESIDENTE</p>
<p>Ruc N° 20606310693 Tel. 945878478 941945158 Domicilio: Calle Pardo Miguel N° 241, Distrito de Bellavista, Provincia de Jaén, Departamento de Cajamarca</p>	

Anexo 2

Constancia de capacitación para personal catador

 **SERVICIOS AL EXPORTADOR capacitación**

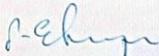
CONSTANCIA

La Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo – PROMPERU, otorga la presente constancia a:

Alcides Llique Ventura

Por su participación y aprobación en el **"Programa de Capacitación en Cata de Cacao y Chocolate"**, con una duración de 70 horas teóricas y 300 hrs. de práctica, realizado del 12 de julio al 08 de agosto en la ciudad de Bagua Chica, Amazonas.

Amazonas, 2017.


RICARDO LIMO DEL CASTILLO
SUBDIRECTOR DE DESARROLLO EXPORTADOR
PROMPERU

 **Ministerio de Comercio Exterior y Turismo**  **Ruta Productiva Exportadora**  **Dir. cetur**

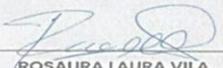
CONSTANCIA

El Ministerio de Comercio Exterior y Turismo, en el marco de la Ruta Productiva Exportadora otorga Certificado de Participación a:

David Jimenez Vera

Por haber participado en el **"CURSO DE CATACIÓN DE CACAO Y CHOCOLATE - AMAZONAS"**, desarrollado en el laboratorio de APROCAM de la provincia de Bagua Amazonas los días 06, 07, 08 y 09 de diciembre del 2023, con un total de 32 horas lectivas.


LUIS LENIN SERVAN POQUIOMA
Director Regional de Comercio Exterior y Turismo


ROSÁURA LAURA VILA
Catadora Acreditada

 **SERVICIOS AL EXPORTADOR capacitación**

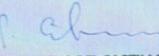
CONSTANCIA

La Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo – PROMPERU, otorga la presente constancia a:

Néstor Jiménez García

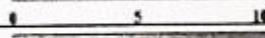
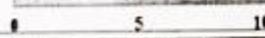
Por su participación y aprobación en el **"Programa de Capacitación en Cata de Cacao y Chocolate"**, con una duración de 70 horas teóricas y 300 hrs. de práctica, realizado del 12 de julio al 08 de agosto en la ciudad de Bagua Chica, Amazonas.

Amazonas, 2017.


RICARDO LIMO DEL CASTILLO
SUBDIRECTOR DE DESARROLLO EXPORTADOR
PROMPERU

Anexo 3

Ficha de evaluación sensorial

ANEXO 04					
FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE LICOR DE CACAO					
ANÁLISIS SENSORIAL DE LICOR DE CACAO					
Juez: _____		Fecha: _____		Código de muestra: _____	
Descriptores	Intensidad (0-10)	Descripción de atributos	Calidad (0-10)	Puntaje	
Olor	 0 5 10			X1-	
Aroma	 0 5 10			X1-	
Acidez	 0 5 10			X1-	
Amargor	 0 5 10			X1-	
Astringencia	 0 5 10			X1-	
Cacao	 0 5 10			X2-	
Dulzor	 0 5 10				
Frutas secas	 0 5 10				
Frutas frescas	 0 5 10				
Nuez	 0 5 10				
Floral	 0 5 10				
Especias	 0 5 10				
Otros	 0 5 10				
Regusto	 0 5 10				X1-
Defectos	 0 5 10				X2-
Comentarios:			Impresión general	X1-	
			Puntaje total		

Anexo 4

Análisis Sensorial

Tabla 11

Resultados del análisis sensorial de las muestras, por cada atributo evaluado

Catador	Repetición	Muestras	Olor - Aroma	Acidez	Amargor	Astringencia	S. cacao	S. dulce	S. frutas secas	S. frutas frescas	S. nuez	S. floral	S. especias	Regusto	Defecto	Impresión general
Catador 1	1	CHO - 100%	8	8	8	7	6	8	5	3	3	3	3	5	2	6
Catador 1	2	CHO - 100%	9	9	7	7	3	7	3	3	4	5	4	4	2	6
Catador 1	3	CHO - 100%	9	8	7	7	4	8	4	4	4	3	3	4	2	5
Catador 2	1	CHO - 100%	6	4	6	5	6	4	5	5	6	3	0	4	8	6
Catador 2	2	CHO - 100%	6	6	6	6	7	4	5	4	7	3	1	4	7	4
Catador 2	3	CHO - 100%	4	5	5	7	6	4	4	3	5	3	0	3	6	5
Catador 3	1	CHO - 100%	5	7	6	7	5	6	6	6	8	7	6	6	5	7
Catador 3	2	CHO - 100%	6	7	7	5	8	4	4	5	4	2	2	6	7	6
Catador 3	3	CHO - 100%	6	5	6	5	7	6	5	3	4	4	4	6	6	8
Catador 1	1	CHO - 70%	9	8	7	7	4	8	4	3	4	7	6	5	2	7
Catador 1	2	CHO - 70%	9	8	8	7	4	7	6	6	4	7	7	4	2	6
Catador 1	3	CHO - 70%	9	8	8	7	4	8	5	4	4	7	6	4	2	6
Catador 2	1	CHO - 70%	7	6	5	6	7	4	5	3	6	4	2	4	6	5
Catador 2	2	CHO - 70%	6	5	5	5	6	5	4	4	6	5	0	4	6	7
Catador 2	3	CHO - 70%	6	5	7	7	6	3	3	4	7	3	0	4	6	5
Catador 3	1	CHO - 70%	5	7	5	5	8	4	5	5	4	6	4	5	5	7
Catador 3	2	CHO - 70%	6	7	6	5	6	3	4	5	5	4	4	6	7	6
Catador 3	3	CHO - 70%	5	5	4	3	6	5	4	5	5	4	4	5	6	6
Catador 1	1	CHO - 40%	8	8	3	4	8	4	2	7	3	5	6	3	4	4
Catador 1	2	CHO - 40%	8	8	4	4	4	4	4	2	3	3	4	2	2	4
Catador 1	3	CHO - 40%	8	8	4	3	3	4	4	3	4	4	3	3	4	5
Catador 2	1	CHO - 40%	5	5	5	5	6	2	5	2	7	3	0	4	8	4
Catador 2	2	CHO - 40%	5	8	7	8	6	3	3	3	5	2	0	3	6	4
Catador 2	3	CHO - 40%	7	4	5	5	6	5	6	4	6	3	0	4	5	4
Catador 3	1	CHO - 40%	8	5	7	7	7	4	4	7	7	6	4	5	7	7
Catador 3	2	CHO - 40%	7	9	8	8	8	6	7	7	6	7	6	7	8	7
Catador 3	3	CHO - 40%	5	6	5	5	5	5	6	6	6	5	5	6	5	7

Anexo 5

Capacidad antioxidante

Tabla 12

Capacidad antioxidante en chocolate para taza a 100, 70 y 40 % de concentración de cacao

Tratamiento	Muestra	Ensayo de transferencia de electrones		
		ABTS ($\mu\text{molTE/g f.w}$)	DPPH ($\mu\text{molTE/g f.w}$)	FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/100 \text{ g}$)
T1	CHO-100%-R1	269,025	275,830	208,060
	CHO-100%-R2	274,079	279,610	218,306
	CHO-100%-R3	276,968	281,120	212,842
T2	CHO-70%-R1	177,329	205,590	124,730
	CHO-70%-R2	179,495	202,570	129,510
	CHO-70%-R3	172,274	198,040	126,090
T3	CHO-40%-R1	94,296	62,080	59,836
	CHO-40%-R2	96,462	64,350	61,202
	CHO-40%-R3	98,628	66,620	64,617

Nota: ABTS (Ácido 2,2'- azino-bis-(3-etiltiazolina- bencenosulfónico-6), DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo), FRAP (capacidad de reducción del hierro)

Tabla 13

Fenoles totales en chocolate para taza a 100, 70 y 40 % de concentración de cacao

Tratamiento	Muestra	Método de fenoles totales
		TPC ((GAE)/100 g)
T1	CHO-100%-R1	27,260
	CHO-100%-R2	27,300
	CHO-100%-R3	27,400
T2	CHO-70%-R1	19,650
	CHO-70%-R2	19,760
	CHO-70%-R3	19,970
T3	CHO-40%-R1	18,890
	CHO-40%-R2	18,850
	CHO-40%-R3	19,260

Nota: TPC (Determinación de Fenoles Totales)

Anexo 6

Calibración de la curva de Tiramina

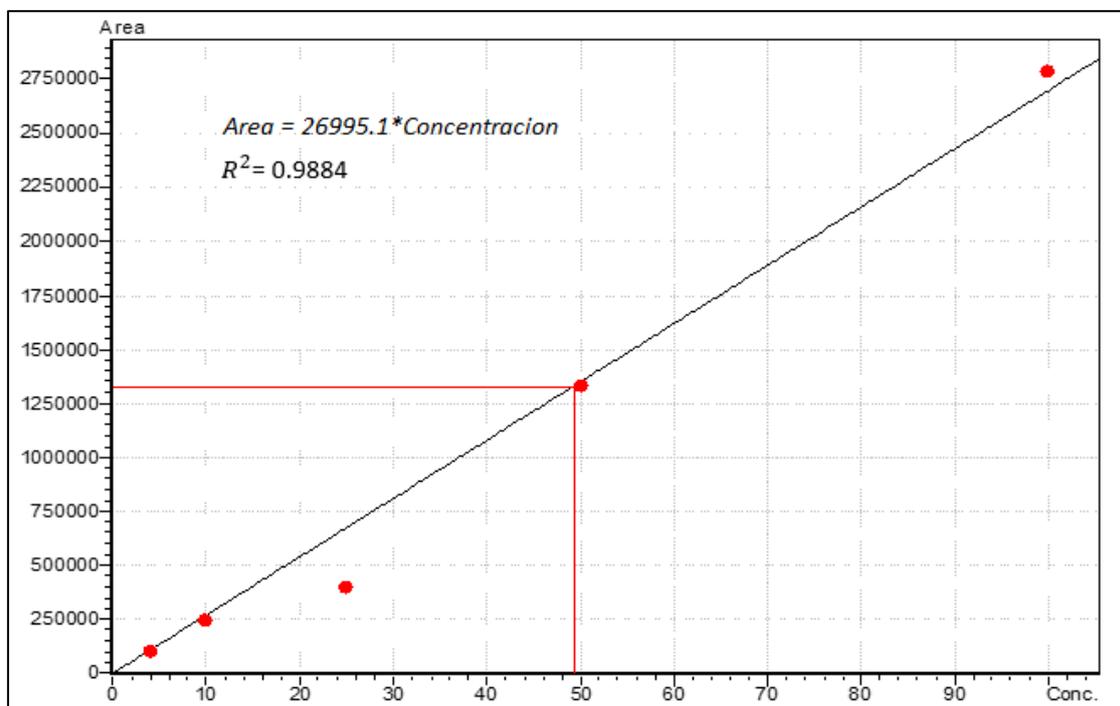
Tabla 14

Resultados de la calibración de tiramina

Ensayos	Nivel	Tiempo de retención	Área	Concentración (mg/L)	Concentración estándar	Exactitud [%]
STD-TYRAMINA-01	1	6.354	96377	3.57	4	89.3
STD-TYRAMINA-02	2	6.371	243764	9.03	10	90.3
STD-TYRAMINA-03	3	6.24	394838	14.626	25	58.5
STD-TYRAMINA-04	4	6.308	1330260	49.278	50	98.6
STD-TYRAMINA-05	5	6.313	2782355	103.069	100	103.1

Figura 16

Ajuste lineal de los resultados de calibración de tiramina



Nota. R^2 : coeficiente de determinación, mientras más cerca de 1, indica un buen ajuste del modelo lineal

Anexo 7*Resultados de cuantificación de Tiramina***Tabla 15**

Resultados de cuantificación de tiramina, por cromatografía líquida de alta precisión

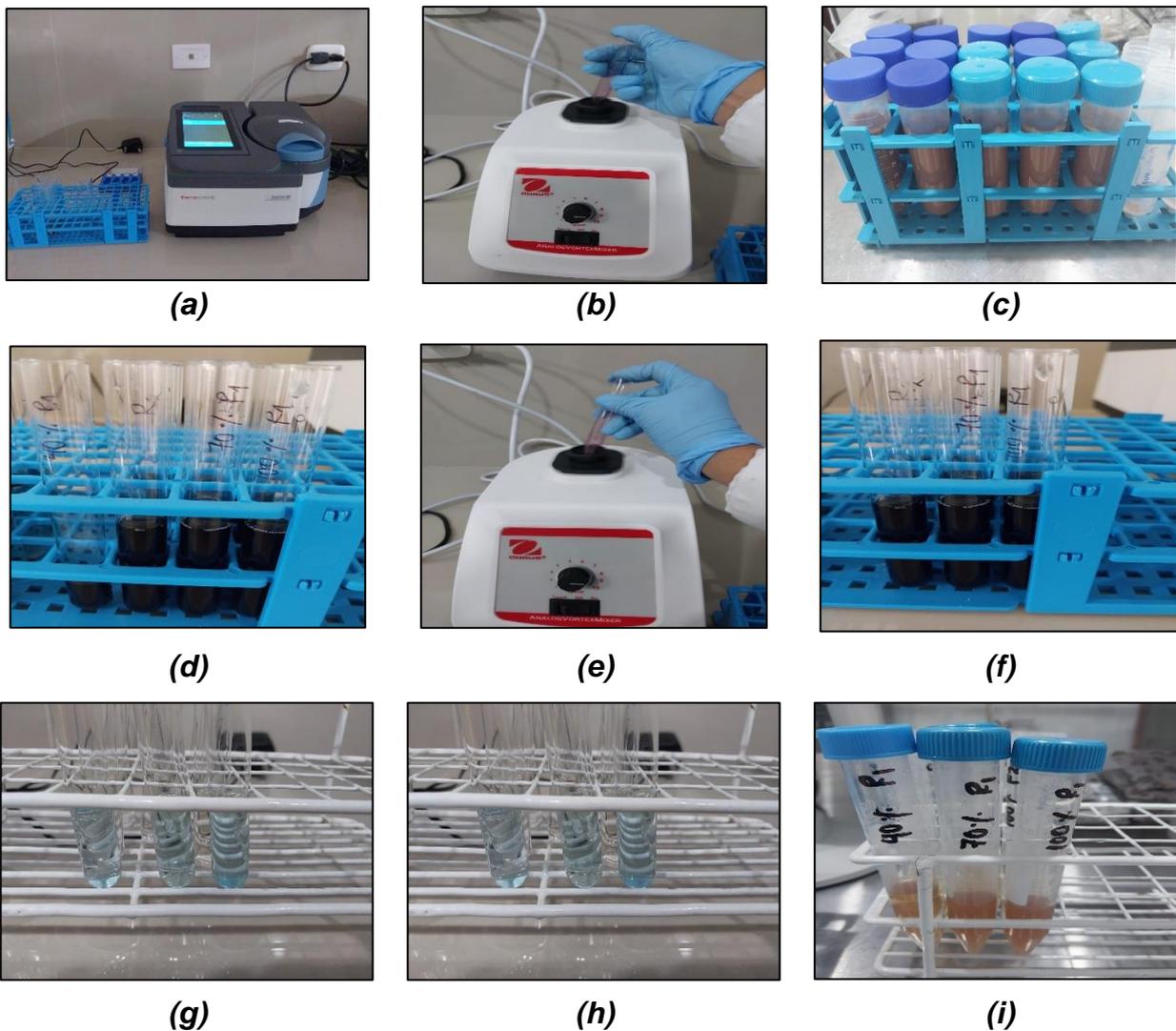
Muestra	Repetición	Tiempo de retención	Área	Concentración (mg/L)
CHO - 100%	1	6.12	210,183	7.786
CHO - 100%	2	6.115	241,919	8.962
CHO - 100%	3	6.118	226,435	8.388
CHO - 100%	4	6.137	226,930	8.406
CHO - 100%	5	6.137	238,319	8.828
CHO - 70%	1	6.216	178,364	6.607
CHO - 70%	2	6.145	188,515	6.983
CHO - 70%	3	6.116	186,220	6.898
CHO - 70%	4	6.101	176,790	6.549
CHO - 40%	1	5.827	10,643	0.394
CHO - 40%	2	5.795	9,006	0.334
CHO - 40%	3	5.84	10,292	0.381

Anexo 8

Galería fotográfica del proceso de capacidad antioxidante

Figura 17

Proceso de análisis para capacidad antioxidante



Nota. Proceso para determinar la capacidad antioxidante por ensayo DPPH, ABTS y FRAP
 (a) (b) (c) obtención de polvo desgrasado de cacao a 100, 70 y 40 %, (d), (e), (f) ensayo DPPH, (g) resultado de ensayo por ABTS, (h) resultado por ensayo FRAP, (i) determinación de fenoles totales.

Anexo 9

Resumen de la validación de supuestos de normalidad y homocedasticidad, para elegir la metodología estadística a usar.

Tabla 16

Resumen de la validación de supuestos de normalidad y homocedasticidad, para elegir la metodología estadística a usar.

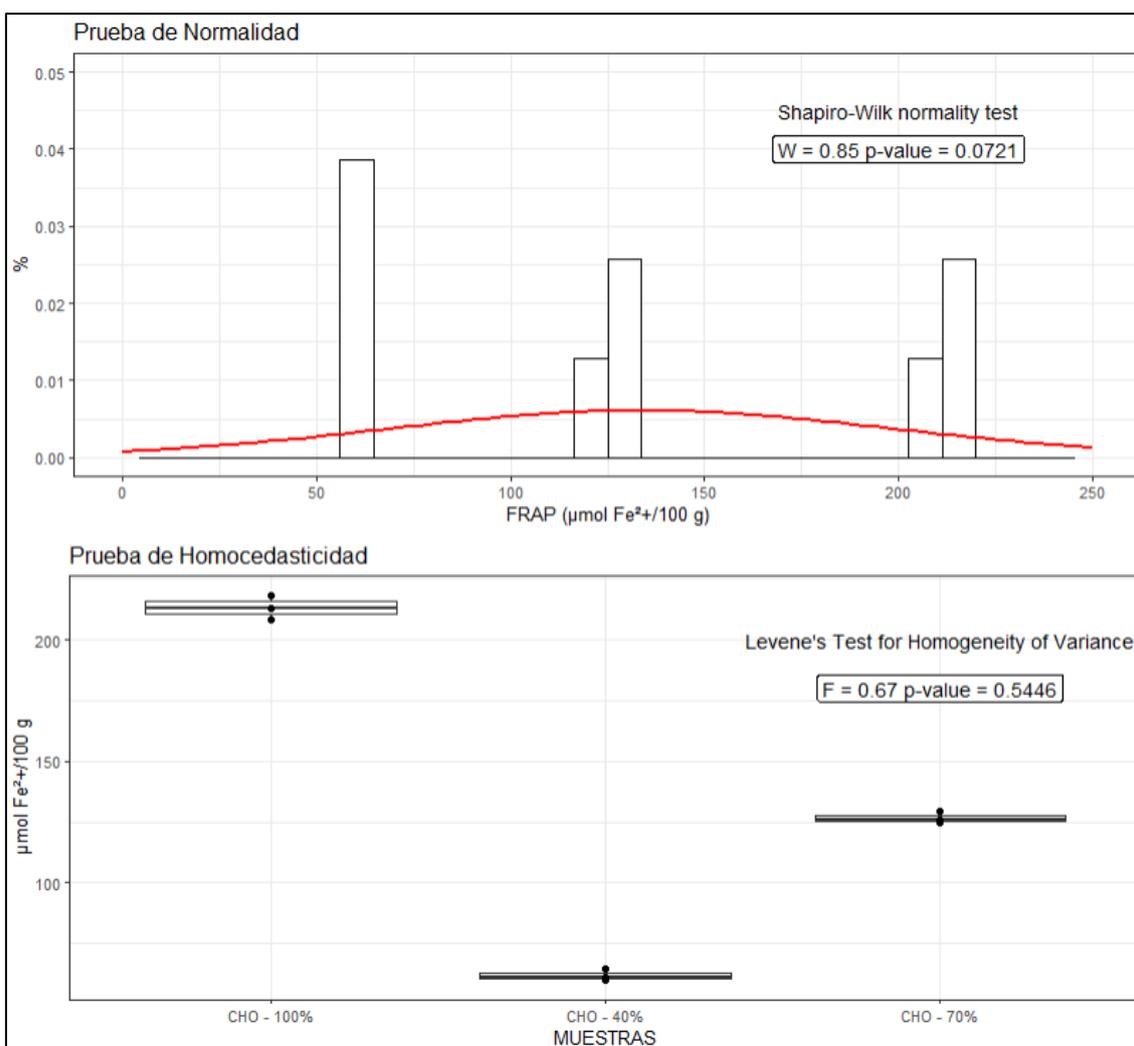
Validación	Variables				
	Capacidad antioxidante (ABTS)	Capacidad antioxidante (DPPH)	Capacidad antioxidante (FRAP)	Contenido de fenoles	Cuantificación de tiraminas
Normalidad					
Test	Shapiro Wilk	Shapiro Wilk	Shapiro Wilk	Shapiro Wilk	Shapiro Wilk
P-valor	0.0652	0.033	0.0721	0.0012	0.0098
Decisión	Si hay normalidad	No hay normalidad	Si hay normalidad	No hay normalidad	No hay normalidad
Homocedasticidad					
Test	Test de Levene	Test de Levene	Test de Levene	Test de Levene	Test de Levene
P-valor	0.7843	0.7996	0.5446	0.7182	0.1724
Decisión	Si hay homocedasticidad	Si hay homocedasticidad	Si hay homocedasticidad	Si hay homocedasticidad	Si hay homocedasticidad
Elección de metodología					
Técnica estadística	ANOVA y Tukey (paramétricas)	Kruskal Wallis y Comparaciones de Nemenyi (No paramétricas)	ANOVA y Tukey (paramétricas)	Kruskal Wallis y Comparaciones de Nemenyi (No paramétricas)	Kruskal Wallis y Comparaciones de Nemenyi (No paramétricas)

Anexo 10

Prueba de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos actividad antioxidante

Figura 18

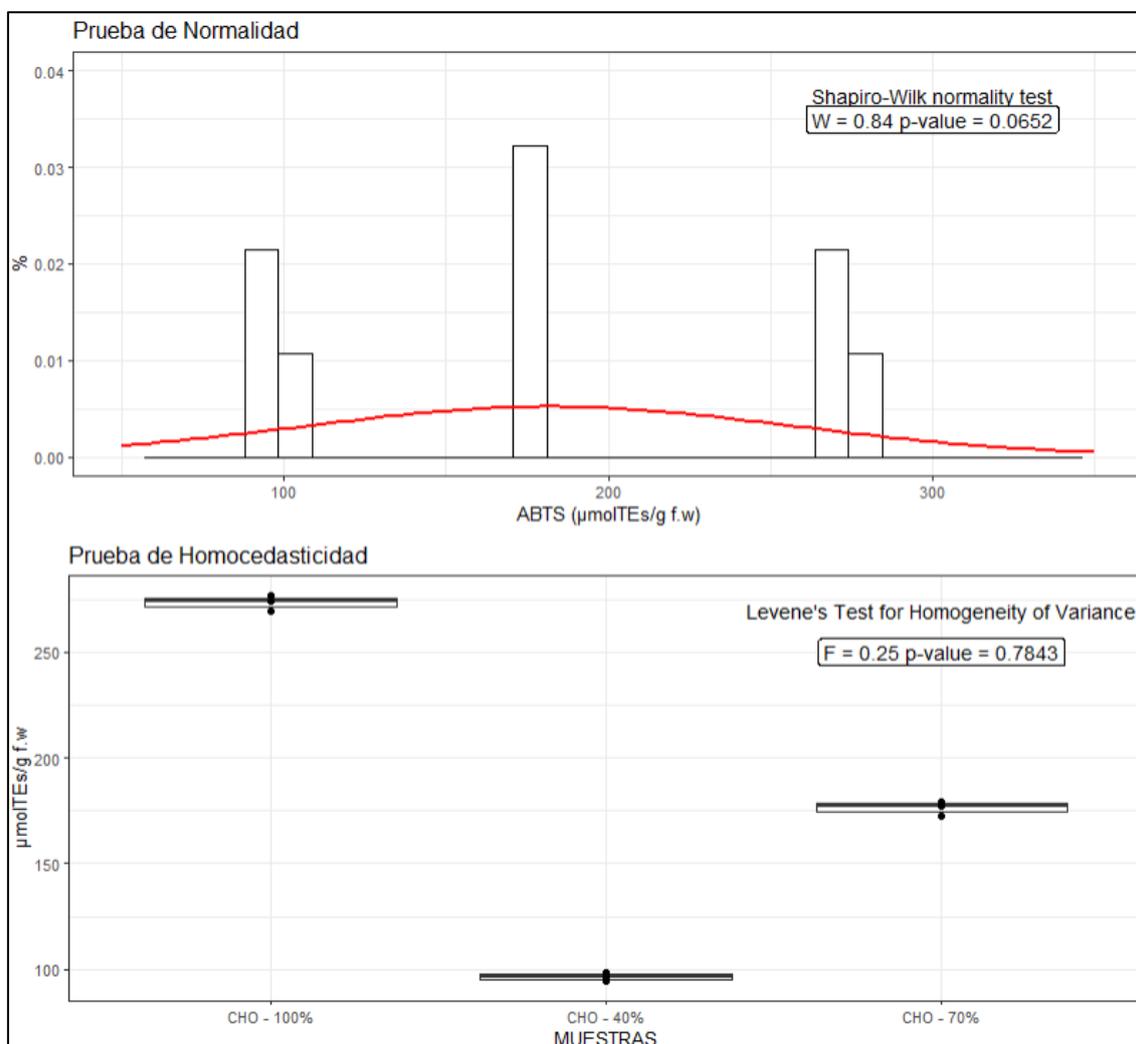
Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de actividad antioxidante obtenidos por el método FRAP



Nota. En el test de normalidad, un p-valor superior a 0.05 (5% de significancia) indica que los datos tienen distribución normal, en el test de homocedasticidad, un p-valor superior a 0.05 indica que las varianzas de las muestras son iguales.

Figura 19

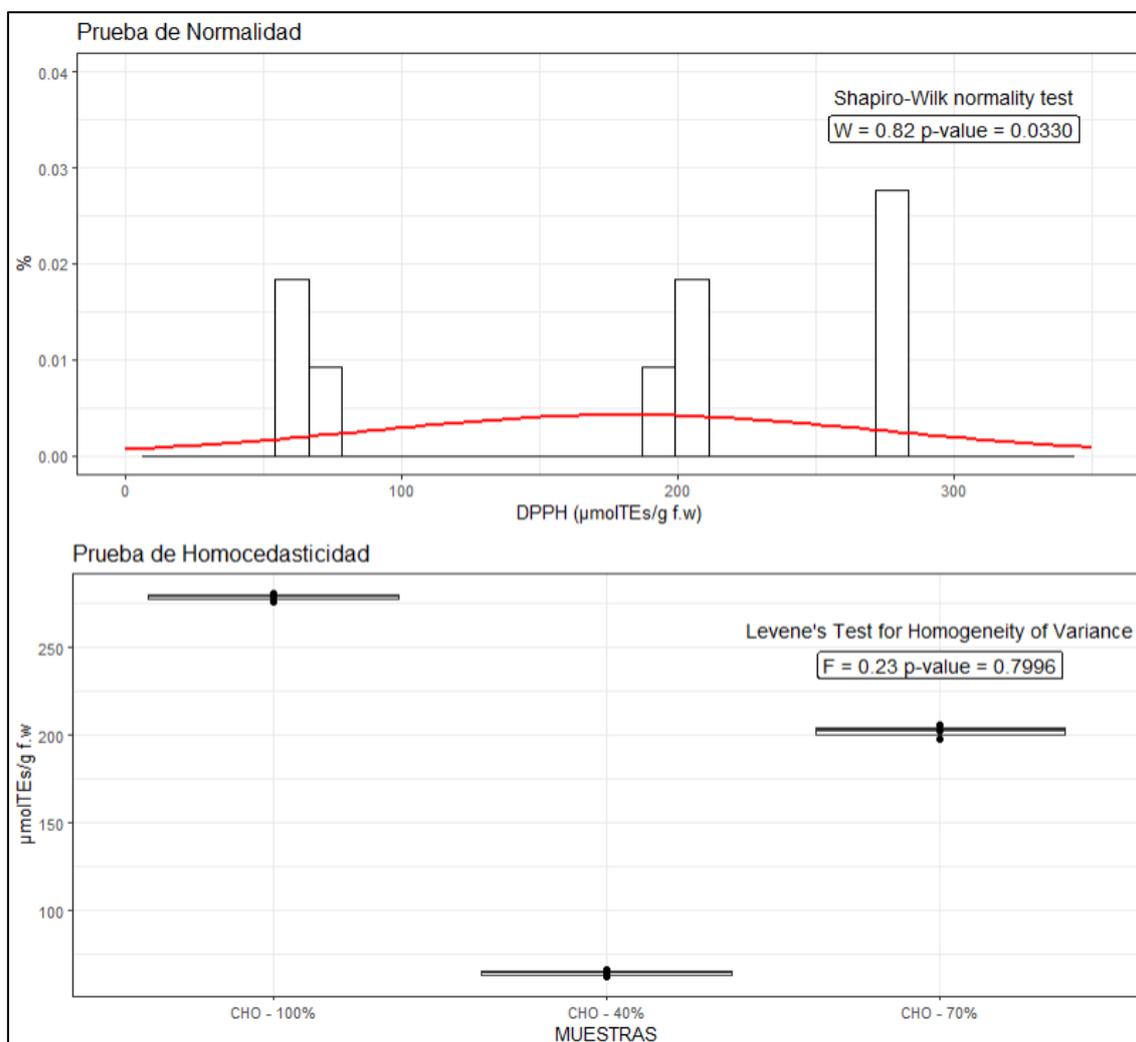
Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de actividad antioxidante obtenidos por el método ABTS



Nota. En el test de normalidad, un p-valor superior a 0.05 (5% de significancia) indica que los datos tienen distribución normal, en el test de homocedasticidad, un p-valor superior a 0.05 indica que las varianzas de las muestras son iguales.

Figura 20

Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de actividad antioxidante obtenidos por el método DPPH



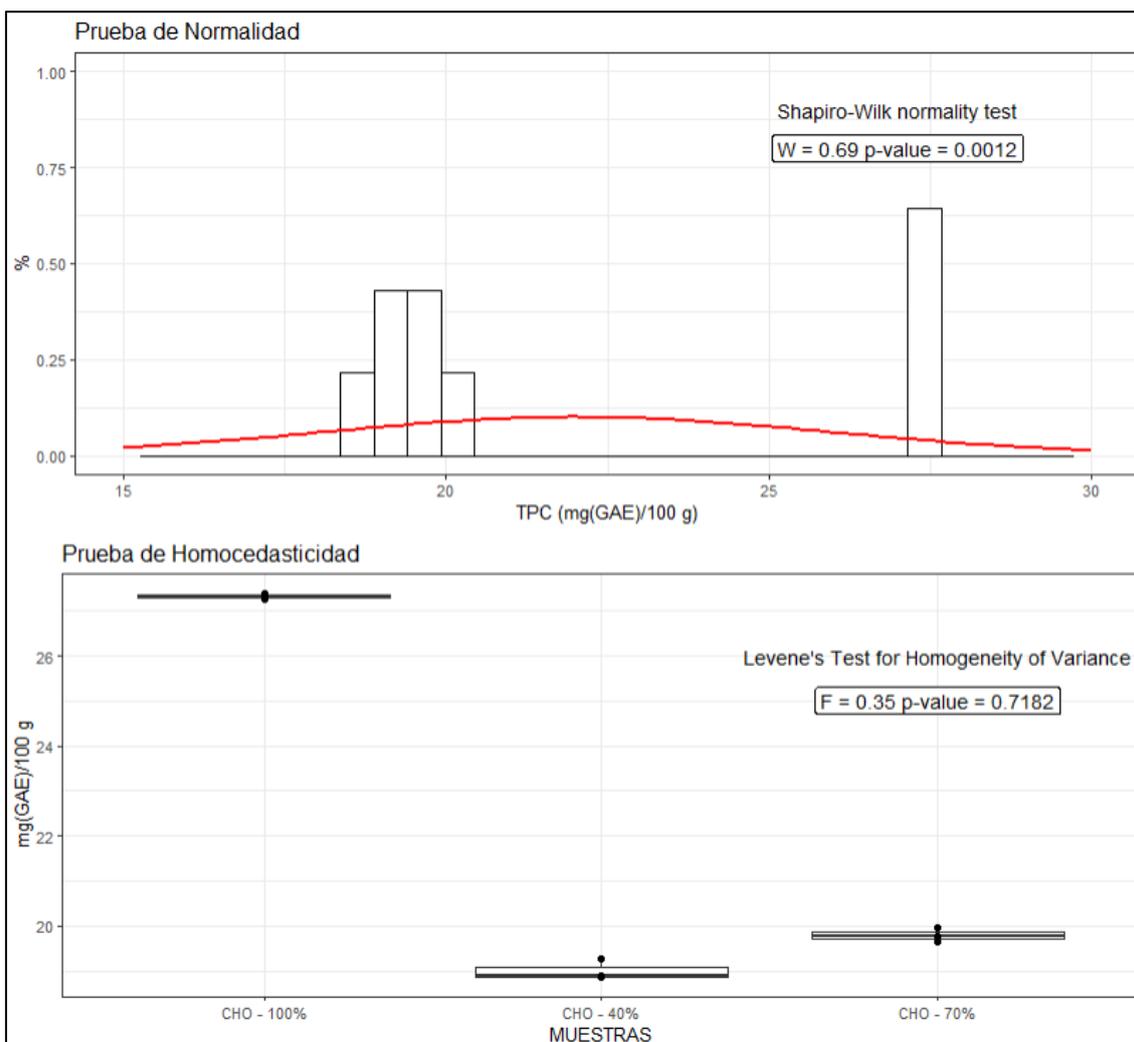
Nota. En el test de normalidad, un p-valor superior a 0.05 (5% de significancia) indica que los datos tienen distribución normal, en el test de homocedasticidad, un p-valor superior a 0.05 indica que las varianzas de las muestras son iguales.

Anexo 11

Prueba de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de cuantificación de Fenoles Totales

Figura 21

Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de cuantificación de Fenoles Totales



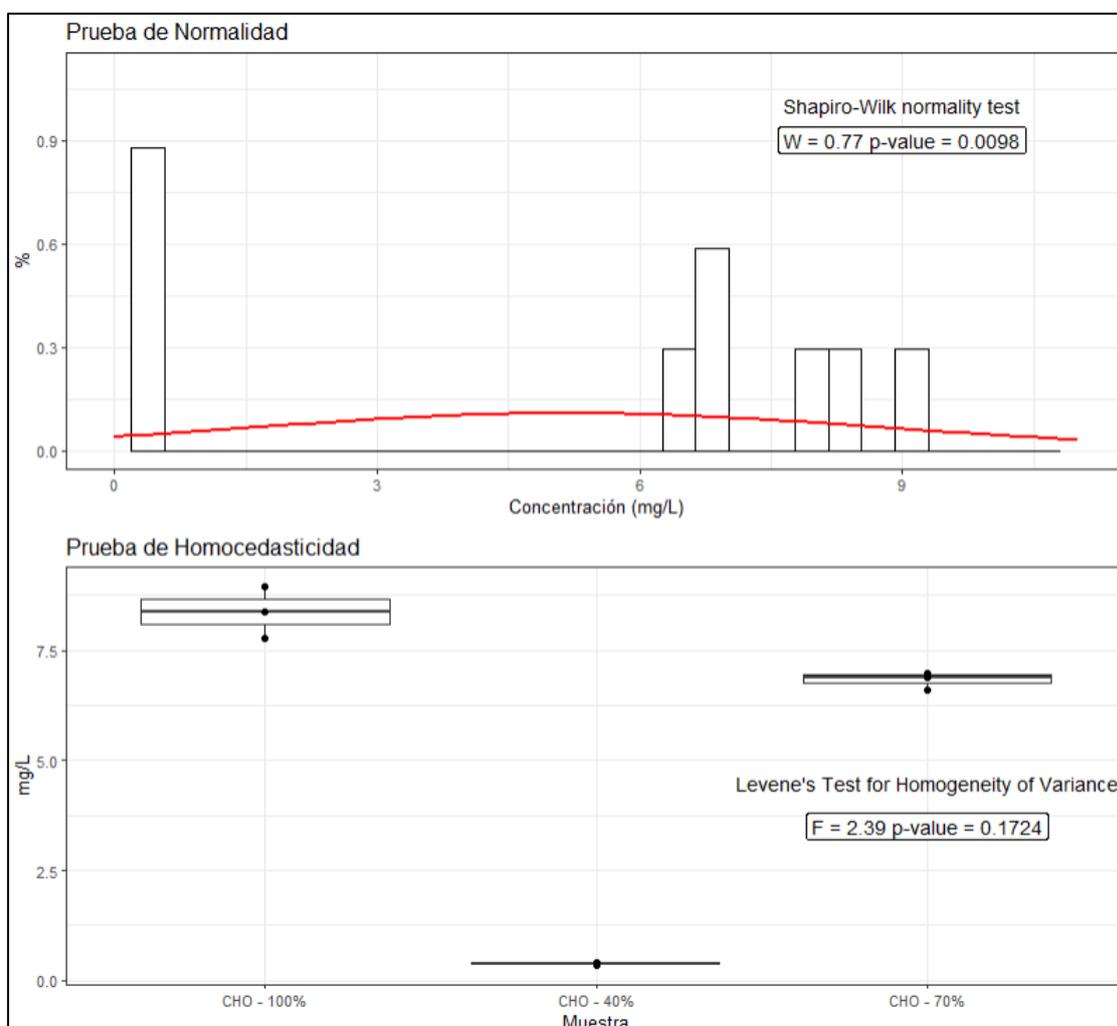
Nota. En el test de normalidad, un p-valor superior a 0.05 (5% de significancia) indica que los datos tienen distribución normal, en el test de homocedasticidad, un p-valor superior a 0.05 indica que las varianzas de las muestras son iguales.

Anexo 12

Prueba de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de cuantificación de Tiraminas

Figura 22

Prueba de cumplimiento de supuestos de normalidad y homocedasticidad para los datos de concentración de Tiraminas



Nota. En el test de normalidad, un p-valor superior a 0.05 (5% de significancia) indica que los datos tienen distribución normal, en el test de homocedasticidad, un p-valor superior a 0.05 indica que las varianzas de las muestras son iguales.

Anexo 13

Análisis de diferencias significativas entre los datos actividad antioxidante de las muestras de chocolate

Figura 23

Análisis de Varianza y Test de Tukey para los datos de actividad antioxidante obtenidas por el método FRAP

```
> anovaFRAP = aov(UMOL ~ MUESTRAS,dataANTIOXIDANTE_FRAP)
> summary(anovaFRAP)
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
MUESTRAS  2  34514   17257   1348 0.000000011 ***
Residuals  6     77     13
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> tukeyTest(UMOL ~ MUESTRAS,dataANTIOXIDANTE_FRAP)

      Pairwise comparisons using Tukey's test

data: UMOL by MUESTRAS

      CHO - 100%   CHO - 40%
CHO - 40% 0.0000000025 -
CHO - 70% 0.0000004063 0.0000013977

P value adjustment method: single-step
alternative hypothesis: two.sided
```

Nota. En ambos test, un p valor < 0.05 indica diferencias significativas, al 5% de significancia.

Figura 24

Análisis de Varianza y Test de Tukey para los datos de actividad antioxidante obtenidas por el método ABTS

```
> anovaFRAP = aov(UMOL ~ MUESTRAS,dataANTIOXIDANTE_ABTS)
> summary(anovaFRAP)
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
MUESTRAS  2  47084   23542   2042 0.00000000316 ***
Residuals  6     69     12
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> tukeyTest(UMOL ~ MUESTRAS,dataANTIOXIDANTE_ABTS)

      Pairwise comparisons using Tukey's test

data: UMOL by MUESTRAS

      CHO - 100%   CHO - 40%
CHO - 40% 0.000000000051 -
CHO - 70% 0.000000148193 0.000000458175

P value adjustment method: single-step
alternative hypothesis: two.sided
```

Nota. En ambos test, un p valor < 0.05 indica diferencias significativas, al 5% de significancia.

Figura 25

Test de Kruskal-Wallis y comparaciones de Nemenyi para los datos de actividad antioxidante obtenidas por el método DPPH

```

> dataDPPH %>% select(MUESTRAS,UMOL) %>%
+   kruskal_test(UMOL ~ MUESTRAS) %>% as.data.frame()
  .y. n statistic df      p      method
1 UMOL 9      7.2  2 0.0273 Kruskal-Wallis
>
> kwAllPairsNemenyiTest(UMOL ~ MUESTRAS,dataDPPH)

      Pairwise comparisons using Tukey-Kramer-Nemenyi

data: UMOL by MUESTRAS

      CHO - 100% CHO - 40%
CHO - 40% 0.02    -
CHO - 70% 0.37    0.37

P value adjustment method: single-step
alternative hypothesis: two.sided

```

Nota. En ambos test, un p valor < 0.05 indica diferencias significativas, al 5% de significancia.

Anexo 14

Análisis de diferencias significativas entre las cantidades de Fenoles totales de las muestras de chocolate

Figura 26

Test de Kruskal-Wallis y comparaciones de Nemenyi para las cantidades de Fenoles totales de las muestras de chocolate

```

> dataFENOLES %>% select(MUESTRAS,UMOL) %>%
+   kruskal_test(UMOL ~ MUESTRAS) %>% as.data.frame()
  .y. n statistic df      p      method
1 UMOL 9       7.2  2 0.0273 Kruskal-Wallis
>
> kwAllPairsNemenyiTest(UMOL ~ MUESTRAS,dataFENOLES)

      Pairwise comparisons using Tukey-Kramer-Nemenyi

data: UMOL by MUESTRAS

      CHO - 100% CHO - 40%
CHO - 40% 0.02    -
CHO - 70% 0.37    0.37

P value adjustment method: single-step
alternative hypothesis: two.sided

```

Nota. En ambos test, un p valor < 0.05 indica diferencias significativas, al 5% de significancia.

Anexo 15

Análisis de diferencias significativas entre las concentraciones de Tiramina de las muestras de chocolate

Figura 27

Test de Kruskal-Wallis y comparaciones de Nemenyi las concentraciones de Tiramina de las muestras de chocolate

```

> dataTIRAMINAS_Concentracion %>%
+   kruskal_test(Concentracion ~ Muestra) %>%
+   as.data.frame()
      .y. n statistic df      p      method
1 Concentracion 9      7.2  2 0.0273 Kruskal-Wallis
>
> kwAllPairsNemenyiTest(Concentracion ~ Muestra,
+                        dataTIRAMINAS_Concentracion)

      Pairwise comparisons using Tukey-Kramer-Nemenyi

data: Concentracion by Muestra

      CHO - 100% CHO - 40%
CHO - 40% 0.02      -
CHO - 70% 0.37      0.37

P value adjustment method: single-step
alternative hypothesis: two.sided

```

Nota. En ambos test, un p valor < 0.05 indica diferencias significativas, al 5% de significancia.